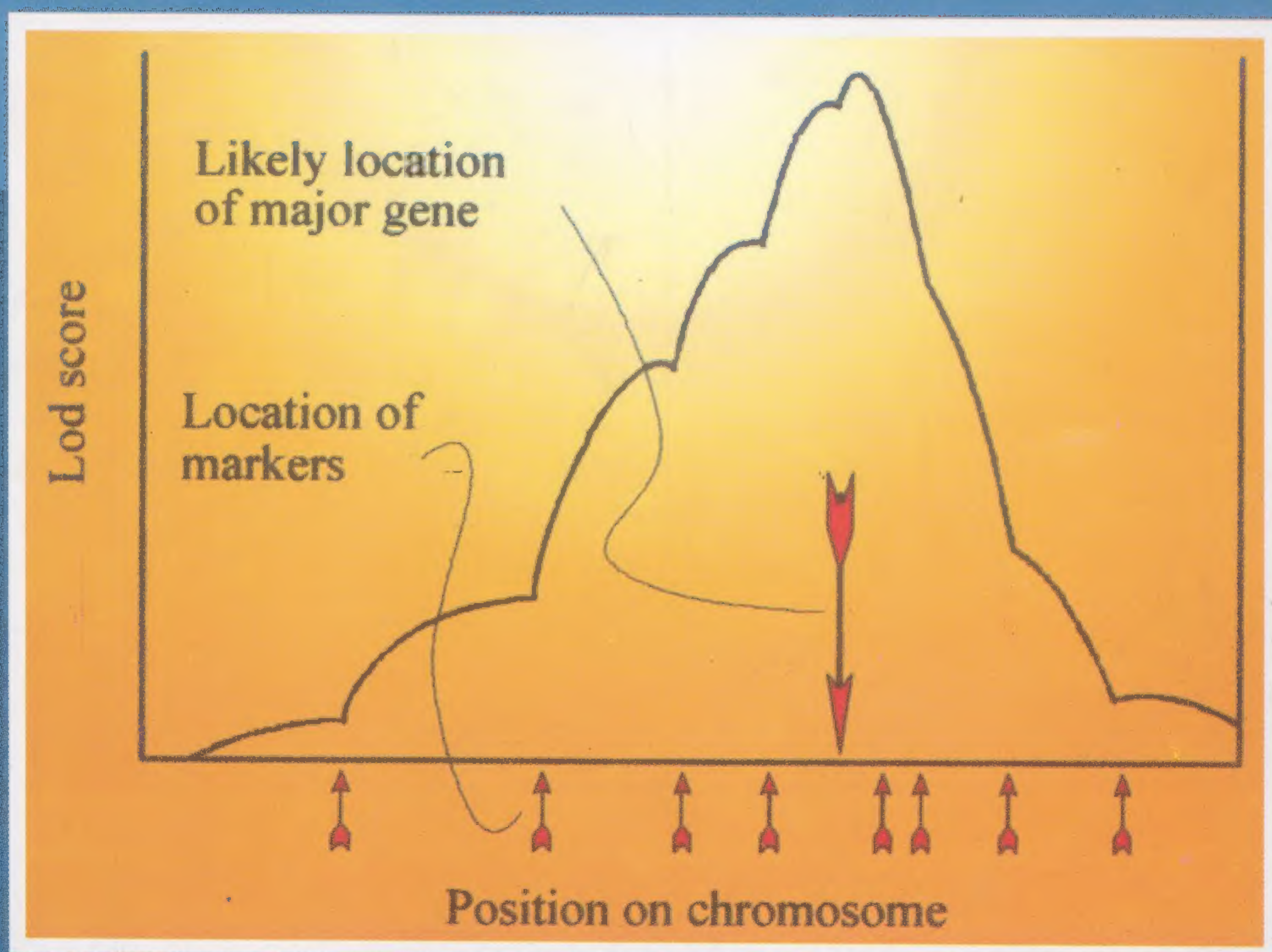


الأستاذ الدكتور أحمد كمال أحمد على

الماركر الوراثى

بين النظرية والتطبيق

فى تربية الحيوان



مكتبة الأنجلو المصرية

الماركس الوراثى

بين النظرية والتطبيق فى تربية الحيوان

تأليف

دكتور/ أحمد كمال أحمد على

استاذ تربية الحيوان
كلية الزراعة - جامعة القاهرة



مكتبة الأنجلو المصرية

بطاقة فهرسة

فهرسة أثناء النشر إعداد الهيئة المصرية العامة لدار الكتب والوثائق
القومية ، إدارة الشؤون الفنية .

على ، احمد كمال احمد .

الماركر الوراثى بين النظرية والتطبيق فى تربية الحيوان

تأليف : احمد كمال احمد على . - ط ١ . -

القاهرة : مكتبة الانجلو المصرية ، ٢٠٠٩ .

١٨٣ ص ، ١٧ × ٢٤ سم

١- الوراثة (حيوان)

أ- العنوان

٢ - الحيوانات - تربية

رقم الإيداع : ١٦١١٣ - - - - -

ردمك : ٩٧٧-٠٥-٢٥٦٩-٣ تصنيف ديوى : ٥٩١,٣٥

المطبعة : محمد عبد الكريم حسان

تصميم غلاف : ماستر جرافيك

الناشر : مكتبة الانجلو المصرية

١٦٥ شارع محمد فريد

القاهرة - جمهورية مصر العربية

ت : ٢٣٩١٤٣٣٧ (٢٠٢) ؛ ف : ٢٣٩٥٧٦٤٣ (٢٠٢)

E-mail : angloebs@anglo-egyptian.com

Website : www.anglo-egyptian.com

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

" لَا تَحْسَبَنَّ الَّذِينَ يَفْرَحُونَ بِمَا أَتَوْا وَيُحِبُّونَ أَنْ
يُحْمَدُوا بِمَا لَمْ يَفْعَلُوا فَلَا تَحْسِبْنَهُمْ بِمَقَازَةٍ مِّنَ الْعَذَابِ
وَلَهُمْ عَذَابٌ أَلِيمٌ "

(آل عمران - آية ١٨٨)

الإهداء

إلى والدي - رحمه الله - الذي عودني أن أطمع في ثراء الفكر والعطاء
إلى والدتي التي جادت على بالدعاء تلو الدعاء
إلى زوجتي التي كافحت معي بصمت العقلاء
إلى ابني محمد ومهيمن اللذين اجزلا مشاعرهما نحوي بسخاء
إلى كل أستاذ زرع في نبتة من علم تربية الحيوان
إلى كل طالب يسعى في طلب العلم
إليكم أهدي ثمرة جهدي

المحتويات

٣	الإهداء
٧	المقدمة

الباب الأول التحسين الوراثي والوراثة الجزئية

١٨	الجينات والصفات الكمية
١٨	أولا : الاتجاه الجيني
٢٠	ثانيا: الاتجاه المسح الوراثي
٢٠	الماركر

الباب الثاني نظم تحليل الارتباط الوراثي

٢٥	أولا: نظام البنت
٢٦	النموذج الإحصائي لنظام البنت
٢٦	معوقات نظام البنت
٢٧	ثانيا: نظام الحفيدة
٢٧	النموذج الإحصائي لنظام الحفيدة
٢٩	عقبات للتحليل الوراثي باستخدام الماركر الفردي

الباب الثالث الاحتمال الشرطي للكيوتي إل جينوتيب

٣٣	حساب الاحتمال الشرطي في الماركر الفردي
٣٤	حساب تأثير الكيوتي إل
٣٥	تحليل الماركرز المتعددة
٣٥	بناء جاميطات الطلوقة
٣٦	حساب الاحتمال الشرطي الماركر المتعدد
٣٦	حساب الحدة العظمى

الباب الرابع الماركر وخرائط المسافات

٤١	معادلة المسافات في الخريطة الوراثية
٤٢	تحديد مواقع الكيوتي إل باستخدام خرائط المسافات للماركرز (الانحدار الخطي) ...

الباب الخامس

خرائط المسافات لموقع الكيوتى إل فى الخرائط غير المكثفة

٤٩	خطوات تحديد موقع الكيوتى إل
٤٩	١- معرفة عدد الطلاق وعدد الأبناء الذكور لكل طلوقة
٥٠	٢- النموذج الإحصائى
٥١	٣- حساب الاحتمال الشرطى
٥١	٤- حساب الحدبة العظمى للتوابت
٥٢	٥- استخدام إى إم الجوريثم لتقدير ثوابت الكيوتى إل
٥٣	٦- تقدير قيمة اللود
٥٣	٧- تحديد القيمة الحدبة

الباب السادس

تحليل الارتباط الوراثى

٥٨	أنواع التصميمات المستخدمة لمعرفة المراكز فى تحليل الارتباط الوراثى
٥٨	أنواع الارتباط الوراثى
٥٨	أولاً: الارتباط المتزن
٥٩	ثانياً: الارتباط غير المتزن
٦٠	تقدير الارتباط غير المتزن بين المراكز والكيوتى إل
	استخدام الارتباط الوراثى غير المتزن فى تحديد الكيوتى إل على
٦١	الخريطة الوراثية
٦١	دمج الارتباط الوراثى المتزن (LE) والارتباط الوراثى غير المتزن (LD)
٦٢	خرائط الارتباط الوراثية
٦٢	١- خرائط ارتباط وراثية مكثفة
٦٣	٢- خرائط ارتباط وراثية غير مكثفة

الباب السابع

إستراتيجيات استخدام المراكز

٦٧	الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن
٦٨	أنواع المراكز
٦٩	١- المراكز المباشرة
٦٩	٢- مراكز الارتباط غير المتزن
٧٠	٣- مراكز الارتباط المتزن
٧١	تحديد الكيوتى إل مستخدماً LD مراكز داخل الخليط
٧١	تحديد الكيوتى إل باستخدام مراكز الارتباط المتزان LE فى العشائر المتباعدة

٧٢	تحديد الكيوتى إلى باستخدام ماركر الارتباط غير المتزن فى العشائر المتباعدة
٧٣	تقدير تأثير الكيوتى إلى فى التقييم الوراثى
٧٤	التقييم الوراثى باستخدام الماركر المباشر
٧٤	التقييم الوراثى باستخدام ماركر الارتباط المتزن
٧٥	التقييم الوراثى باستخدام ماركر الارتباط غير متزن
٧٦	إستراتيجيات الانتخاب داخل النوع بمعلومية الكيوتى إلى والبولوجينات

الباب الثامن

الانتخاب بناء على ثلاثة أنواع من الماركرز

٨١	صفات الجينات الفردية والصفات الكمية
٨٢	الارتفاع بالاختبارات الوراثية
٨٤	برنامج الماركر المساعد لإدخال الجينات
٨٥	برنامج الماركر المساعد للانتخاب

الباب التاسع

استخدام القيمة الدالية Indicator variable لحساب تكرار الاليلات وتباينها

٩١	حساب التباين
٩٢	الحدبة العظمى

الباب العاشر

استخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتى إلى

١٠١	خطوات استخدام النموذج الخليطة
١٠٣	عيوب طريقة النموذج الخليطة
١٠٤	مصفوفة التطابق بالنسب المصفوفة G
١٠٧	الاستفادة من الانتخاب بمساعدة الماركر
١٠٨	حساب معامل التربية الداخلية
١٠٨	تأثير عدد المواقع على BLUP
١٠٩	تأثير طول الجينوم على BLUP
١١٠	تأثير عدد الماركرز على BLUP
	طريقة بسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب باستخدام الماركرز
١١٠	المتعددة
١١٣	بروتوكول استخدام الطريقة البسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب

الباب الحادي عشر النموذج المختلط للكيوتى إل

١١٧ أهمية النموذج المختلط للكيوتى إل
١٢١ التوزيع المختلط للنموذج الخليط
١٢٥ خطوات استخدام النموذج المختلط
١٣٠ مزايا النموذج المختلط

الباب الثاني عشر الماركرزو التنوع الوراثي

١٣٥ التماثلية فى التنوع الوراثي
١٣٩ الماركر المعلوماتي
١٤٠ أنواع التزاوج للماركر المعلوماتي
١٤٠ مقاييس المعلوماتية
١٤١ الماركر والمسافات الوراثية بين العشائر
١٤٢ خرائط المقارنة

الباب الثالث عشر الانتخاب الوراثي للمقاومة للمرض

١٤٧ أولا: العقبات التى تواجه الانتخاب للمقاومة للمرض
١٤٧ ثانيا: متى يمكن إدخال المقاومة للمرض فى برامج التربية
١٤٩ ثالثا: الموانع الدفاعية للمرض فى الجسم
١٥٠ رابعا: الانتخاب الوراثي للمقاومة للمرض
١٥١ الانتخاب المباشر للمقاومة للمرض
١٥٢ الانتخاب غير المباشر للمقاومة للمرض
١٥٢ الخريطة الوراثية
١٥٤ تحديد النوع الأكثر مقاومة للمرض والاستفادة منه فى برامج التربية
١٥٥ دور الماركر فى دراسة المقاومة المرضية وتحسين الإنتاج
١٥٧ الانتخاب للمقاومة المرضية
١٥٧ إستراتيجيات الانتخاب باستخدام الكيوتى إل
١٦٢ النموذج الاحصائي

الباب الرابع عشر

برامج المراكز المساعدة للانتخاب (م ١ س)

١٦٥ أنواع المراكز المستخدمة في برامج المراكز المساعدة للانتخاب
١٦٧ نتائج هامة للاستجابة للانتخاب باستخدام المراكز
١٧٠ أسباب الاختلافات في نتائج أبحاث (م/س)
١٧٠ معوقات في استخدام برامج المراكز المساعدة للانتخاب
١٧٥ المراجع

مقدمة الكتاب

مع ظهور الألفية الجديدة، ألفية التقدم العلمى وظهور أفرع مختلفة للعلوم البيولوجية ومن بينها:

التقدم الهائل فى علم الوراثة الجزئية والذى أدى إلى معرفة الخريطة الوراثية وتحديد التركيب الجينومى للإنسان والذى لازمه أيضا تقدم فى معرفة التركيب الجينومى لكل من الحيوان والنبات. ويتقدم علم الجينوم، يسعى العلماء لمعرفة وتحديد وظيفة الدنا DNA ليس فقط للأفراد ولكن أيضا تحديد وتطور الجينوتيب بين الأنواع، العائلات؛ والمجموعات الوراثية المختلفة.

وتساهم أفرع العلوم الأخرى فى هذا التقدم، فوراثة العشائر لها أهميتها فى تحديد السيلات الجينات وتأثير عوامل الطفرة؛ الهجرة؛ الصدفة؛ والانتخاب على تغير التكرار الالىلى، وأيضا معرفة اثر الارتباط المترن، والارتباط غير المترن على التكرار الجينى فى العشيرة.

وتساهم الوراثة الكمية فى تحديد نسبة التأثير التجمعى، وغير التجمعى، والبيئى، وكذلك التداخل بينها فى تقييم الحيوان، وتحديد كفاعته للصفات الإنتاجية، والفسىولوجية، والمقاومة المرضية.

وللإحصاء الوراثة دورا أساسيا فى علم الجينوم لان العينة العشوائية والخطأ التجريبي موجودا دائما فى أبحاث الجينوتيب ويعتمد التقييم الوراثة للحيوانات على تحليل البيانات التى تتوافر فى مظهر الصفة، إى معلومات فى سجلات الحيوان الروتينيه، وكذلك معلومات عن الجينات فى مواقع الصفات الكمية على الكروموسومات.

وكان التقدم فى علم البرمجة واكتشاف حسابات آلية ذات ذاكرة كبيرة وسرعات فائقة اثر كبير فى التقدم فى تحديد الجينوتيب، وذلك بإيجاد بيانات محاكاة لكثير من نظم التزاوج، ونظم تربية الحيوان.

وتحديد الجينات فى مواقع الصفات الكمية غير معروفا لكثير من الصفات التى تهتم مربى الحيوان، لذلك كان من الضرورى البحث عن جينات مرتبطة معها، وقريبة منها على نفس الكروموسوم والتى يمكن الاستدلال على تلك المواقع.

ويتناول هذا الكتاب دور الماركر الوراثة كأحد فروع التحليل الجينومي والذى ساعد فى تحديد مواقع الصفات الكمية، والذى تلاه مباشرة معرفة افضل طرق الانتخاب للحيوانات الممتازة فى برامج تربية الحيوان. كما يتناول الكتاب أيضا كيفية عمل المزيج من افرع العلوم السابق ذكرها فى طرق استخدام الماركر الوراثة، وطرق تحديد مواقع الصفات الكمية، ومعرفة تأثيرها، وتحديد كمية هذا التأثير فى برامج التحسين الوراثة للحيوان.



الباب الأول التحسين الوراثي والوراثة الجزئية

الباب الأول

التحسين الوراثي والوراثة الجزيئية

أعتمد التقدم في التحسين الوراثي للصفات الكمية في الحيوانات المزرعية سابقاً على الانتخاب بناءً على الصفات المظهرية أو القيمة التربوية المقدرة من القيمة المظهرية دون معرفة لعدد الجينات وتأثيرها؛ أو موقعها على الكروموسوم والتي تؤثر على الصفات الكمية.

ومع التقدم التكنولوجي للوراثة الجزيئية Molecular Genetics تم معرفة التركيب الوراثي للحيوان على مستوى الـ DNA، وبالتالي يمكن الانتخاب مباشرة بناءً على الجينات التي تؤثر على الصفة مثل:

الجين الرئيسي Major Gene مواقع الصفات الكمية (الكيوتي ال - QTL) Quantitative Trait Loci؛ ماركرز Markers مرتبطة ارتباطاً وثيقاً بمواقع الكيوتي ال. وبالتالي يمكن الحصول على تحسين وراثي أكبر منه عند استخدام القيمة المظهرية ويرجع ذلك للعوامل التالية :

- ١- بفرض عدم حدوث خطأ وراثي، نجد أن الوراثة الجزيئية لا تتأثر بالظروف البيئية ولذلك لها معامل وراثي Heritability يساوي الواحد صحيح.
 - ٢- تتوافر الوراثة الجزيئية في الأعمار المبكرة أي في عمر الأجنة وبالتالي يمكن الحصول على المعلومات اللازمة للانتخاب في عمر مبكر مما يمكن معها تقليل مدى الجيل Generation Interval.
 - ٣- يمكن الحصول على معلومات الوراثة الجزيئية من جميع الأفراد تحت الانتخاب، وهذا له أهمية خاصة للصفات المرتبطة بالجنس، والصفات مرتفعة القيمة الاقتصادية، والتي يصعب قياسها إلا بذبح الحيوانات كصفات الذبيحة.
- ويعتمد التطبيق الفعلي للوراثة الجزيئية في مجال تربية الحيوان خمس قواعد أساسية:

- ١- رسم الخريطة الوراثية Genetic Map.
- ٢- تحديد التعددية الأليلية Allelic Polymorphism.
- ٣- تحديد المواقع الوراثية للصفات الكمية (QTL) وتقدير الارتباط بين البيانات الوراثية (الماركرز) والصفات الكمية ذات القيمة الاقتصادية.

٤- التقسيم الوراثي والذي يعتمد على التكامل بين البيانات المظهرية وبيانات الوراثة الجزئية واستخدام افضل الطرق الإحصائية لتقدير القيمة التربوية في برامج التحسين الوراثي.

٥- استخدام برامج الانتخاب بمساعدة الماركر أو ما يسمى برامج الماركر المساعدة للإنتخاب (م ا س) (Marker Assisted Selection (MAS) حتى يمكن تطوير استراتيجيات التربية وبرامج استخدام معلومات الوراثة الجزئية في الإنتخاب ونظم التزاوج المختلفة.

الجينات والصفات الكمية :

هناك اتجاهان لتحديد الجينات التي تؤثر على الصفات المهمة:
أولاً: الاتجاه الجيني :

وفى هذا الاتجاه يمكن تحديد الجينات التي تؤثر على صفة معينة، من خلال معرفة الأساس الفسيولوجي للصفة، وعليه يمكن تحديد كل من: الجينات؛ التعددية الجينية Polymorphism، المصاحبة بين التعددية الجينية؛ والصفة الكمية. وتتم هذه التحديدات بالتحليل الإحصائي للسجلات المظهرية للأفراد التي تحمل الصفة فى العشيرة تحت الدراسة. وباستخدام هذه الطريقة أمكن تحديد تأثير عدد من الجينات الرئيسة Major Genes. ومن أهم الأمثلة على ذلك:

١- الجين المسمى ب (إى إس آر - Estrogen Receptor (ESR). وهو المسؤول عن عدد الأفراد فى البطن الواحدة Litter Size فى الخنازير.

٢- الجين المسمى مايوستاتين Myostatin وهو المسؤول عن مضاعفة وزيادة العضلات فى الفئران وماشية اللحم. وقد تم تحديد هذا الجين على الكروموسوم رقم 2 قرب النهاية السنتروميرية فى الأبقار وهو يسبب مضاعفة العضلات Double Muscling وحيث يؤثر وجود الجين على محصول اللحم وسمك الدهن. وقد وجد أن الحيوانات ذات النسخة من الجين غير الفعال Inactivated Myostatin تعطى محصولاً أكثر من اللحم وأقل فى الدهن.

٣- الجين المسمى البورولا إف جين Booroola sheep F gene وهو يؤثر على معدل التبويض ويسبب زيادة فى معدل التبويض وزيادة عدد الحملان فى البطن الواحدة ويؤثر الجين تأثيراً تجميعياً حيث أن وجود واحد اليل يسبب زيادة واحد إلى واحد ونصف بويضة. وهو جين موجود فى أغنام المرنينو

الأسترالية Cisro Booroola Flock. والجدير بالذكر أن هذا الجين لا يظهر أى تأثير للنفاذية Pleiotropic effect على الصفات الإنتاجية الأخرى. بينما يظهر تأثير هذا الجين. ويظهر تأثير هذا الجين على خلايا الجرانولوزا granulose cells لحويصلة جراف وتقليل تأثير هرمون الإانهبين Inhibin وزيادة مستوى الجونادوتروبين (FSH) والجدول التالي يوضح ذلك.

FF	F+	++	
4.7	2.9	1.4	معدل التبويض
2.7	2.4	1.5	عدد الأفراد فى البطن

* حيث FF يمثل التركيب الأصيل للبرولا.

٤- التعددية الاليلية للنيكلو تيدة الفردية Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

ومنها الجين DGAT1. أو ما يسمى Diacylglycerol O-acyltransferase 1 والذي يلعب دوراً مهماً فى تشفير الأنزيم والذي بدوره يؤثر فى تخليق التراى جليسریدز Triglycerides (وذلك عن طريق هدم التفاعل من الداي اسيل جليسرول Diacylglycerol وال Fatty acyl-CoA عند تكوين التراي جليسریدز) والنيكلو تيدة DGAT1 تقرب من منطقة الكيوتى ال QTL لإنتاج الحليب فى منطقة السنترومير للكروموسوم 14 وقد وجد ان هناك استبدال غير منتظم لليسين Lysine بالألانين Alanine للنيكلو تيدة (K232A). والأليلين فى هذا الموقع هما K, A يعملان كشفرة لليسين والألانين وبالتالي هناك ثلاثة تراكيب وراثية هي AA, KA, KK فالتركيبان AA, KK يمثل الحيوانات المتطابقة Homozygous. الأليل المسؤول عن الاختلافات فى الليسين مسؤول عن الزيادة فى محصول الدهن ونقص كل من محصول البروتين ومحصول اللبن، بينما الأليل المسؤول عن الاختلافات فى الألانين يقلل نسبة الدهن ويزيد كل من محصول البروتين ومحصول اللبن.

٥- الجين CAPN1 له تعددية اليلية ومسؤول كما ذكرنا سابقا عن تشفير الأنزيم Protease u-Caplain كما أنه واحد من أهم الأنزيمات التى تعمل على طراوة اللحم، كما أنه يعمل على تحليل الأنسجة العضلية بعد الذبح أثناء التيس الرمى Postmortem ويوجد جين CAPN1 على الكروموسوم 29 إذ يحتوى على نيكلو تيدات ذات علاقة بطراوة اللحم، ووجد هذا التأثير فى كل من

الهيرفورد والبراهما وكذلك الخليط بينهما. وتم تحديد أربعة نيكلو تيدات فردية (SNP) باستخدام أربعة ماركرز هي:

أ - الماركر CAPN316 له الايلين C/G Cytidine/guanosine polymorphism حيث أن C يشفر الالانين وG يشفر للجيسين والماركر له تركيبين هما CG, GG.

ب- الماركر CAPN 530 adenosine/guanosine polymorphism (A/G) الاليل A يشفر الايزولسين وال G اليل يشفر الفالين.

ج- الماركر CAPN 4753 Adenosine/Cytidine Polymorphism(A/C) وله ثلاثة تراكيب AA,AC,CC.

د- الماركر CAPN 5331 Adenosine/Thymidine Polymorphism(A/T) له ثلاثة تراكيب AA,AT,TT.

ثانيًا: الاتجاه المسح الوراثة Genome Scan :

يستخدم هذا الإتجاه لتحديد الكيوتي إلى باستخدام الجينات المعلمة (الماركرز) والتي تتواجد على طول التركيب الوراثة. ويجب ان يكون كثافة الماركرز عالية اى على بعد قريب من الكيوتي إلى. وان يكون هناك اتزان غير عشوائى بينه وبين الكيوتي إلى كما هو الحال في الخلط بين الأنواع أو الخطوط الوراثة كتربية الأبعاد Out breeding.

والدقة فى تحديد الكيوتي إلى تعتمد على توافر الماركرز وتوافر عشائر ذات حجم كبير.

والعشائر الملائمة لدراسة وراثة الكيوتي إلى هي:

- ١- عائلات أنصاف الأشقة لعشائر متباعدة Half sib families.
- ٢- الجيل الثانى (F2) الناتج عن خلط عشائر متباعدة Outbreeding.
- ٣- عشائر مربية تربية داخلية Inbred Population.
- ٤- عشائر الخلط الرجعى Backcrossing.

الماركر Marker :

الماركر هو جين يستخدم لتحديد مواقع جينات أخرى على الكروموسوم ومنها الكيوتي إلى وقد يكون موقع الماركر هو نفسه موقع الكيوتي إلى سيأتي ذكر ذلك لاحقاً.

ويمكن تقسيم المراكز الى:

١- المراكز المباشرة وهي جينات لمواقع علي الكروموسوم لها قدرة التشفير لوظيفة معينة. بمعنى آخر هي جينات وظيفية، ويعتبر هذا النوع من المراكز من أهم المراكز المطلوبة في برامج التربية، لان لها علاقة مباشرة مع ظاهرة بيولوجية معينة، أو صفة معينة لها تعبيراً مظهرياً. وتعتبر المراكز المباشرة من اصعب المراكز تحديداً Difficult to Detect فمن الصعوبة بمكان تحديد سبب علاقتها مع الصفات الكمية والتي لها علاقة وراثية تجمعية.

ومن أهم المراكز المباشرة علي سبيل المثال الجين المسمى CoA-Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT1) وجين مستقبلات هرمون النمو Growth Hormone Receptor وهذان الجينان لهما تأثيرهما علي صفة إنتاج الحليب ومكوناته. كما أن هناك المراكز ذات التأثير المباشر للصفات العضوية المرضية Congential Defects والتي لها علاقة بالتمثيل الغذائي، وعموماً يمكن تحديد هذا النوع من المراكز ذات التأثير المباشر للصفات العضوية المرضية عنها في الصفات الكمية. ومن امثلة هذا النوع من المراكز Bovine Leukocyte Adesion Deficiency أو نقص تخليق اليوريددين مونوفوسفات Uridine Monophosphate Synthesis. ومن الأمثلة الأخرى، الجين المسؤول عن تخليق ال K-Casine والجين المسؤول عن تكوين ال B-Lactoglobulin في الحليب.

وتستخدم المراكز المباشرة (أو تسمى أحيانا Casutive Genes) في برامج التلقيح الصناعي لمنع عيوب خلقية معروفة وذات تأثير ملموس، مما يتطلب استخدام الطلائق الصغيرة بعد فحصها وراثياً لكشف الاليات المتتحية. ويحظر إدخال الطلائق الخليطة Heterozygous Bulls في برامج الاختبار بالنسل. ويستخدم نسل الطلائق الأصلية للاليات الطبيعية والتي لا تتأثر بلاليات المتتحية المميتة كما ان تكرار الاليات المعيبة Defective Alleles في عشائر الأبقار يتناقص بمعدل النصف مع التقدم جيلاً بعد جيل.

٢- مراكز أخرى اسهل تحديداً وأقل أهمية كالمراكز التي في حالة ارتباط غير متزن Linkage Disequilibrium وتتواجد علي بعد عدة وحدات CMS من المراكز الوظيفية وهي مثل المراكز المباشرة تسمح بالانتخاب باستخدام

الجينوتيب عبر العائلات Across Families ومثال على ذلك ماركر قريباً من جين البرولاكتين والذي له تأثيراً على إنتاج الحليب وتركيبه.

٣- الماركرز السهل اكتشافها كالماركرز التي في حالة ارتباط متزن Linkage equilibrium. وتعتمد أكثر برامج تحسين الماشية على هذا النوع من الماركرز حيث يسهل التعرف على هذا النوع من الماركرز باستخدام عائلات أنصاف الأشقة الكبيرة الحجم. وهي عموماً تتواجد على مسافات أبعد من الجينات الوظيفية على الكروموسوم، لذلك يؤدي بعد المسافات إلى حدوث العبور وتكوين توافق وراثية genetic recombination، مما يؤدي إلى حدوث عكس لطور الارتباط reverse the linkage phase بين الماركرز والجينات الوظيفية من جيل إلى جيل مقللاً أهميتها للانتخاب حتى داخل العائلات Within family selection. وتبدو أهمية الماركرز في الانتخاب للصفات ذات المعامل الوراثي Heritability المنخفض، وفي الحالات التي تبدو فيها صعوبة في إجراء الاختبار بالنسل لصعوبة الحصول على بيانات مظهرية.

الباب الثاني نظم تحليل الارتباط الوراثي

الباب الثاني

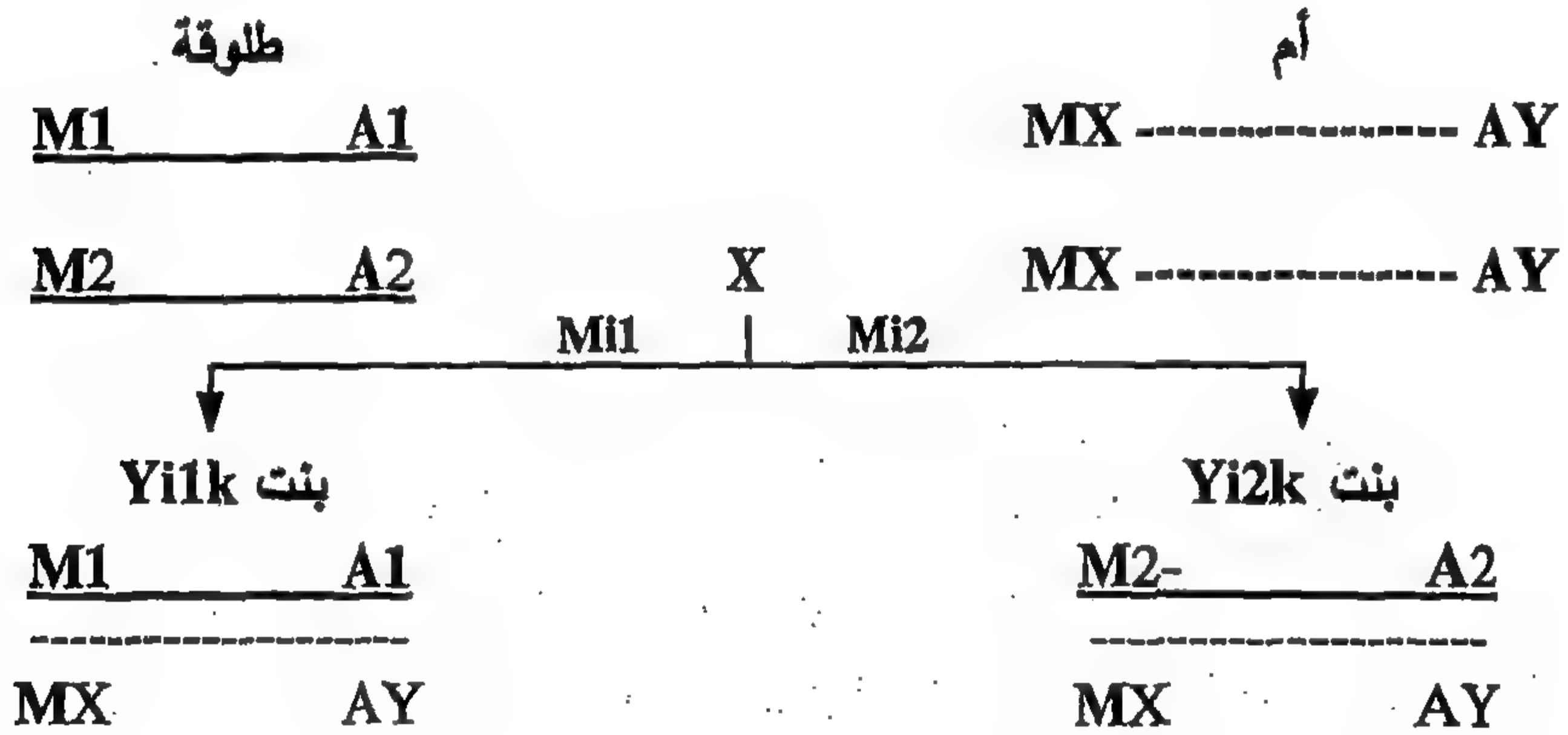
نظم تحليل الارتباط الوراثي

Single Marker Analysis

تحليل الارتباط بين الماركر الفردي والكيوتي إل باستخدام نظام البنت ونظام الحفيدة.

أولاً: نظام البنت :

في هذا النظام يتم تتبع أليلات الكيوتي إل لجيلين، أو أكثر من الطلقة التي تم اختيارها قبل أن تستخدم في الانتخاب. وفي هذا النظام تستخدم عائلات أنصاف الاشقة لتحليل الارتباط بين الماركر المنفرد والكيوتي إل والرسم التالي يوضح ذلك:



ماركر من الاب M1, M2

ماركر من الأم MX

جينات QTL من الاب A1, A2

جينات QTL من الأم Ay

القيمة المظهرية للصفة للبنت k والطلقة i والليل الماركر z هي Y_{ijk}

كروموسوم الأب

كروموسوم الأم

يلاحظ أن لو كان الفرد (الطلقة مثلاً) خليط للماركر (M1, M2) ومرتبطة بجين الكيوتي إل (A1, A2). عندئذ يمكن أن نتوقع وجود تراكيب وراثية جديدة

حيث يستقبل النسل (بنات الطلوقة) جين ماركر من الأب مرتبط مع أليل للكيوتي إل (A1, A2). وهنا يمكن تقسيم النسل إلي مجموعات طبقا لاليل الماركر الذي ينتقل من الأب الخليط للماركر، وبذلك يمكن إيجاد فروق بين متوسط القيمة الكمية لمجموعتي النسل التي إنتقل إليها إليلي الماركر وإيجاد فروق معنوية للماركر داخل الطلوقة (باستخدام اختبار t) يكون دليلا علي وجود جين الكيوتي إل بجانب الماركر ويشرح الإحصائي ذلك.

النموذج الإحصائي لنظام البنت :

هذا النموذج يمثل النظام الهرمي لمجموعة الماركر داخل الطلوقة.

$$Y_{ijk} = S_i + M_{ij} + e_{ijk}$$

حيث نجد

Y_{ijk} = القيمة المظهرية للصفة للبنت

S_i = تأثير الطلوقة

M_{ij} = تأثير الاليل i للطلوقة j

E_{ijk} = الخطأ

معوقات نظام البنت :

١- يتطلب نظام البنت دراسة الجينوتيبينج Genotyping لعدد كبير من البنات ولعدد كبير من الماركرز، إى أن نظام البنت يتطلب عينة ذات حجم كبير Large sample size، مما يؤدي إلي زيادة تكاليف الدراسة.

٢- أحيانا يكون هناك عدد محدود من البنات لكل طلوقة، لذلك يستخدم بيانات البنات لعدد من الطلائق مجتمعة حتي يمكن زيادة قوة الاختبار الإحصائي المستخدم.

٣- أحيانا يكون الطلوقة خليط لجين الماركر Heterozygous، ولكن أصيلا Homozygous لجين الكيوتي إل. عندئذ إنعزال الماركر والكيوتي إل لايعطي فروق إلا في جزء بسيط بين مجموعتي البنات بالنسبة لمتوسط القيمة الكمية لهذا الطلوقة.

٤- في حالة وجود عدد من عائلات أنصاف الأشقة قد تختلف علاقة الارتباط بين الماركر والكيوتي إل في الأفراد المختلفة، بمعنى أن بعض الأفراد يكون الماركر في كروموسوم معين مرتبط بكيوتي إل، تزيد من متوسط الصفة

الكمية، بينما يكون في كروموسوم آخر الماركر نفسه مرتبط بكيوتي إل، تقلل من متوسط الصفة الكمية، لذلك يكون إختبار (t) غير كاف لظهار الفروق بين مجموعات البنات.

٥- عند استخدام الطلوقه الخليط لماركر معلوماتي له أكثر من أليل، وعند توارث نسل الطلوقه لأليلات الماركر الخليط يجري إختبار (F) كنسبة بين متوسط المربعات للماركر أليل داخل الطلوقه إلي متوسط المربعات الراجع للخطأ. وهذا الإختبار يختلف من ماركر عن آخر وحتى بالنسبة للماركرز والتي لها المحتوي نفسه البلومورفيزمي Polymorphism Information Content (PIC). نجد أن الاختلافات التي ترجع للصدفة تتسبب في اختلاف درجات الحرية من ماركر إلي آخر مما يعطى قيما مختلفة لاختبار (F).

ثانيا: نظام الحفيدة :

وفي هذا النظام يكون هناك جد Grandsire يحمل أليلات الماركر (M1,M2) ومرتبطة بأليلات الكيوتي إل ويتبع إنتقال أليلات الماركر والمرتبطة بأليلات الكيوتي إل (A1,A2) من الجد إلي الحفيدة عبر أبناء Sons من الجد. ويتم تسجيل توريث Genotyping للأبناء Sons والطلاق الجد الخليطة للماركر وكذلك تقدير قيمة الصفة الكمية (كمية الحليب مثلا) في بنات الأبناء (الحفيدات) Granddaughters.

النموذج الإحصائي لنظام الحفيدة:

هذا النموذج يمثل النظام الهرمي وفيه الأبناء داخل اليل الماركر داخل الطلوقه الجد.

وأن وجود تأثير معنوي للماركر داخل الجد دليل علي إنعزال الكيوتي إل المرتبطة بالماركر.

$$Y_{ijkl} = G_i + M_{ij} + S_{ijk} + e_{ijkl}$$

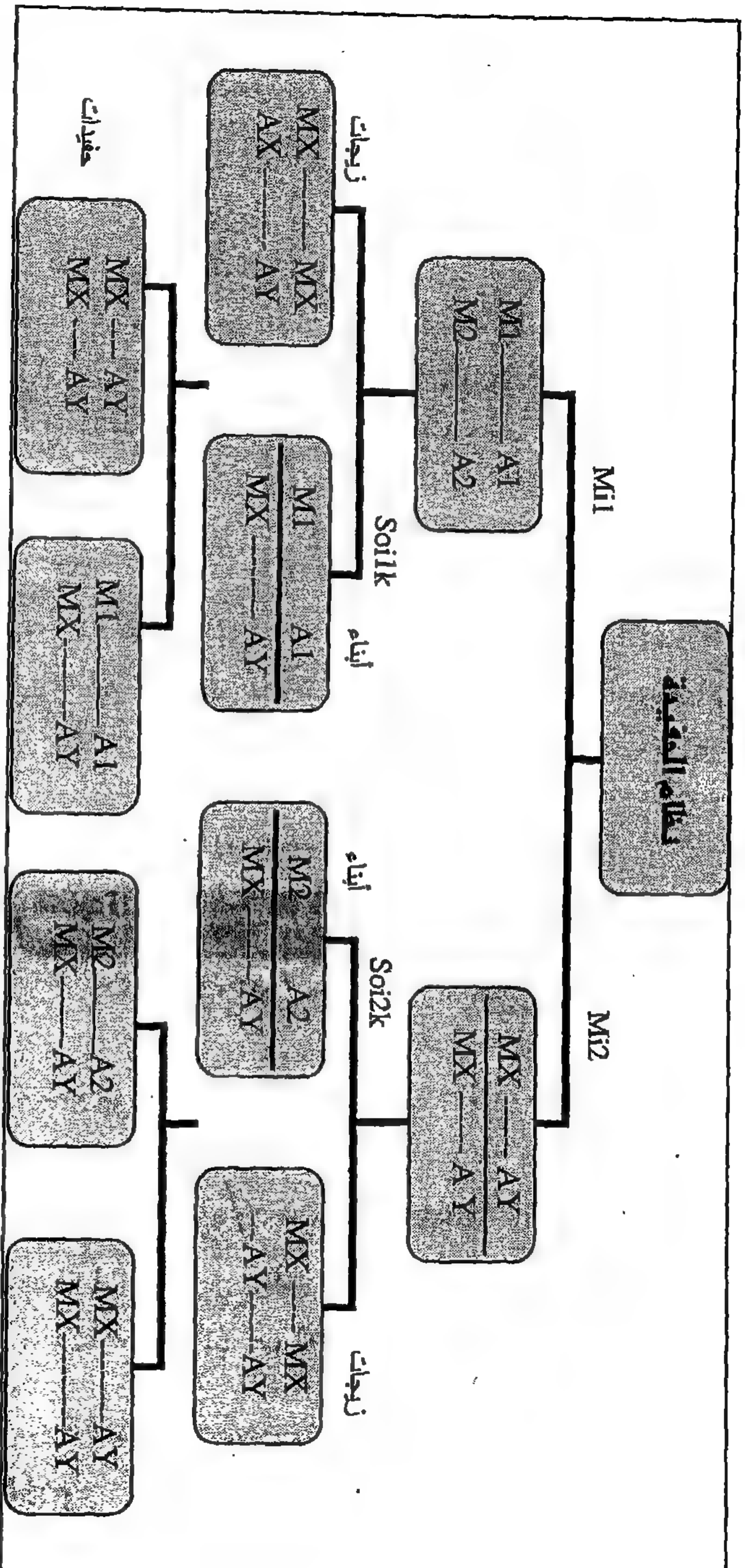
Y_{ijkl} = القيمة المظهرية للصفة للحفيدة l بنت الابن k ابن الجد i ولها اليل الماركر z لذلك يتكون مجموعتين من الأبناء لكل جد

G_i = تأثير الجد i

M_{ij} = تأثير أليل الماركر z للجد i

S_{ijk} = تأثير الابن k للجد i والاليل z

E_{ijk} = الخطأ



M_x أيلت الماركر من الجدة والأم
 A_y أيلت الكيوتي إلى من الجدة والأم

M_1, M_2 أيلت الماركر من الجد
 A_1, A_2 أيلت الكيوتي إلى من الجد
 كروموسوم من الجد
 كروموسوم من الجدة

كما سبق توضيح توارث الماركر الفردي باستخدام نظام البنت ونظام الحفيدة وهناك عقبات للتحليل الوراثي باستخدام الماركر الفردي يجب ذكرها.

عقبات للتحليل الوراثي باستخدام الماركر الفردي:

من المعروف أن معرفة التوريث Genotyping لعدد كبير من الماركرز يتطلب بيانات كثيرة، وكذلك تحليل معلمي مكثف للميكروساتليت Microsatellite ولكن هناك عوائق هامة لتحليل الماركر الفردي الوحيد أهمها:

١- لا يوجد ماركر تام الخلط (له درجة خلط 100%). واستعمال الماركر العالي المعلوماتية Highly Informative Markers مثل الماركر المتعدد الايلية له متوسط درجة خلط 50-70%. وانه لأي ماركر، يكون هناك بعض الطلائق تكون خليطة Heterozygous، وبعض الطلائق أصيلة Homozygous، وغير معلوماتية NonInformative.

٢- تحليل الماركر الوحيد ينتج عنه كثير من المعلومات، ويكون هناك تحيز واضح في الموضع المقدر للكيوتي إل.

٣- لو كان هناك عدد من الماركرز، والتي لها معدل مختلف للمحتوي المعلوماتي، مرتبطة للكيوتي إل، نجد أن الماركر الذي يعطي أكبر دليل علي وجود الكيوتي إل هو الماركر الذي له أكبر قدر معلوماتي Informative Marker وليس الماركر الأكثر قربا Closest Marker للكيوتي إل.

٤- عند تقدير موضع، وتقدير تأثير الكيوتي إل يكون متوسط تأثير الكيوتي إل وموضعها ممزوجين Confounded. وهذا المزج يؤدي إلي تقدير متحيز لتأثير الكيوتي إل وتقدير منخفض لقوة الاختبار الإحصائي Statistical power خصوصا عندما يكون هناك خريطة وراثية منخفضة الكثافة Low Density Map.

٥- لا يمكن تحديد موضع الكيوتي إل بدقة وذلك لعدم الإستقلالية بين إختبارات النظرية الفرضية للماركرز المرتبطة، والممزوجة مع تأثير وموضع الكيوتي إل.

الباب الثالث

الاحتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب

الباب الثالث

الاحتمال الشرطي للكيوتى إل جينوتيب

Conditional Probability

الاحتمال الشرطي للكيوتى إل جينوتيب هو العنصر الاساسى الذى بنى عليه نظرية خريطة الكيوتى إل. حيث انه لو كان الجينوتيب للكيوتى إل هو Q_k ومعطى جينوتيب الماركر الملاحظ M_j يكون الاحتمال الشرطى هو:

$$\Pr(Q_k / M_j) = \Pr(Q_k, M_j) / \Pr(M_j)$$

وتصبح المعادلة العامة لمتوسط جينوتيب الماركر M_j هي:

$$\mu_{M_j} = \sum_{k=1}^N \mu_{Q_k} \Pr(Q_k / M_j)$$

اي انه يوجد عدد N كيوتى إل QTL (Q_1, Q_2, \dots, Q_N) حيث أن متوسط k^{th} كيوتى إل هو μ_{Q_k} وأن تأثير الكيوتى إل يكون من خلال μ_{Q_k} بينما يكون موضع الكيوتى إل من خلال الاحتمال الشرطى Conditional Probability $\Pr(Q_k / M_j)$.

حساب الاحتمال الشرطى فى الماركر الفردى:

يمكن حساب الاحتمال الشرطى بمثال:

فى نظام F_2 (الناتج من خط خطين اصيلين ($MMQQ^* \times mmqq$) ماركر أحادى وكيوتى إل أحادية مرتبطة مع الماركر، وكان معدل التوافق الوراثية هو بينهما هو c ، تصبح القيمة المتوقعة لتكرار الجاميطات هو:

$$\Pr(MQ) = \Pr(mq) = (1-c)/2, \quad \Pr(Mq) = \Pr(mQ) = c/2$$

وان احتمال فرد من F_2 تركيبه

$$\Pr(MMQQ) = \Pr(MQ) \cdot \Pr(MQ) = \{(1-c)/2\}^2$$

$$\Pr(MmQQ) = 2\Pr(MQ) \cdot \Pr(mQ) = 2(c/2) [(1-c)/2]$$

ويصبح الاحتمال الشرطى للكيوتى إل معطى الماركر كالاتى:

$$\Pr(QQ/MM) = (1-c)^2, \quad \Pr(qq/MM) = c^2, \quad \Pr(Qq/MM) = 2c(1-c),$$

$$\Pr(QQ/Mm) = c(1-c), \quad \Pr(Qq/Mm) = (1-c)^2 + c^2, \quad \Pr(qq/Mm) = c(1-c),$$

$$\Pr (QQ/mm) = c^2, \Pr (Qq/mm) = 2c (1-c), \Pr (qq/mm) = (1-c)^2$$

حساب تأثير الكيوتي إل :

كما يمكن حساب تأثير الكيوتي إل بمثال:

فى نظام F2، ماركر أحادى وكيوتي إل احادية مرتبطة مع الماركر وكان معدل التوافق الوراثية هو بينهما هو c

لو رمزنا لقيمة الجينوتيب للكيوتي إل

$$\mu_{QQ} = \mu + 2a, \mu_{Qq} = \mu + a (1+k) \text{ and } \mu_{qq} = \mu$$

حيث أن a هى مقياس للقيمة التجمعية وقيمة k هى مقياس لدرجة السيادة وبتطبيق الاحتمال الشرطى تصبح قيمة

$$\mu_{MM} = \mu + 2a (1-c)^2 + 2c (1-c) (1+k) a$$

$$\mu_{Mm} = \mu + 2a c (1-c) + [(1-2c(1-c))] + (1+k) a$$

$$\mu_{mm} = \mu + 2a c^2 + 2c (1-c) + (1-c) (1+k) a$$

ولو كان الماركر والكيوتي إل غير متشابهين ($c =$) وأن كل الماركر لها المتوسط نفسه $\mu + a\{(1+k/2)\}$ وبترتيب المعادلات نجد أن

$$a^* = (\mu_{MM} - \mu_{mm})/2 = a(1-2c)$$

$$K^* = \{\mu_{Mm} - (\mu_{MM} + \mu_{mm})/2\} / \{(\mu_{MM} - \mu_{mm})/2\} = k (1-k)$$

وان قيمة a^* ، K^* هى تقدير لقيمة a, k .

لو كان هناك N كيوتي إل مرتبطة للماركر، تكون ال i^{th} كيوتي إل والتى لها معدل توافق c من الماركر، ويكون لها تأثير تجمعى وتأثير سيادى a_i, k_i

$$(\mu_{MM} - \mu_{mm})/2 = \sum_{i=1}^N a_i^*$$

$$\{\mu_{Mm} - (\mu_{MM} + \mu_{mm})/2\} / \{(\mu_{MM} - \mu_{mm})/2\} = \sum_{i=1}^N a_i^* k_i^* / \sum_{i=1}^N a_i^*$$

$$a^* = a_i (1- 2c_i) , k_i^* = k_i (1-2c_i)$$

تحليل الماركرز المتعددة: Multiple Marker Analysis

عند تحليل الماركرز المتعددة يتم تحديد أزواج من الماركرز القريبة من بعضها والتي كل زوج منها يحيط بالكيوتي إل Putative Markers، ويعتمد هذا النظام على أنه لموقع معين (مسافة 1cm) في الخريطة الوراثية يتم حساب الاحتمال الشرطي Conditional Probability أن يتوارث النسل إحدي الجاميطات لهذا الموقع مشروطا علي الماركرز Marker Genotype، ثم يتم إدماج هذا الاحتمال الشرطي في إحدي الطرق الأحصائية مثل الحدبة العظمي، أو أقل فرق للمربعات. طبقا للخطوات التالية:

١- بناء جاميطات الطلوقة:

بعد تحديد الطلوقة الخليط للماركرز، وإستبعاد الماركرز غير المعلوماتية الاصيلة والمثال التالي يوضح ذلك:

طلوقة لها التركيب الوراثي Aa BB Cc dd EE Ff
الطلوقة له 100 بنت نصف شقيقة وأن

عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	A and C or a and C = 6
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	A and C or a and C = 17
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	C and F or C and F = 15
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	C and F or C and F = 10

وتصبح إعادة بناء جاميطات الطلوقة هي:

Gamete 1	A	C	F	
Gamete 2	A	C	F	
HS1	AA	cc	ff	تركيب النصف شقيق الأول
HS2	AA	cc	ff	تركيب النصف لشقيق الثاني

المطلوب حساب احتمال توارث الاليل من الطلوقة للجاميطة 1 للكيوتي إل Q علي بعد 30 cM من الماركر A وأن المسافة بين كل اثنين من الماركرز هي 20 cM:

معدل التوافق الوراثية كدالة في المسافة بين الماركرز $r = 0.5 (1 - e^{-2m})$.
حيث m تمثل المسافة بين الماركرز وتمثل r معدل التوافق الوراثية.

٢- حساب الاحتمال الشرطي Conditional probability في الماركرز المتعددة:

ويمثل الجدول التالي إلاحتمال الشرطي، إذا كان لكل ماركر أليلين والتي تتعزل بتكرار متساوى

النسل Offspring	الاحتمال الشرطي Conditional Probability	قيمة الاحتمال Probability
HS1	$(1-rAQ) (1-rQC)/(1-rAC)$	0.97
HS2	$RAQ (1-r QF)/rAF$	0.50

ويصبح الاحتمال الشرطي للجاميطتين لكل المواقع في المجموعة المرتبطة وراثيا هو 5. كما الحال في Hs2.

٣- حساب الحدبة العظمى Maximum Likelihood :

$$L = \prod_{i=1}^s \left\{ p \prod_{j=1}^{n_i} \frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}} \exp\left(\frac{-z_{ij}^2}{2\sigma_w^2}\right) + \frac{(1-p)}{2} \prod_{j=1}^{n_i} \frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}} * \right.$$

$$\left[m_{ij} \exp\left(\frac{-(Z - \frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right) + (1 - m_{ij}) \exp\left(\frac{-(Z + \frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right) + \right.$$

$$\left. \frac{(1-p)}{2} \prod_{j=1}^{n_i} \frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}} \left[m_{ij} \exp\left(\frac{-(Z + \frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right) + (1 - m_{ij}) \exp\left(\frac{-(Z - \frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right) \right] \right\}$$

حيث أن Z_{ij} تمثل القيمة المظهرية للسجل محسوبة كانهراف من متوسط مجموعة أنصاف الاشقة للطلوقة i والنسل j بينما تمثل m_{ij} الاحتمال الشرطي Conditional Probability بان النسل j يورث الجاميطة 1 من الطلوقة i عند موقع الدراسة وان الطلوقة i له n_i من النسل.

هنا نجد أن الحدبة العظمى للكيوتي إل لمكان معين يتطلب ثلاث ثوابت هي:

- ١- معدل تكرار الطلائق الأصيلة عند موقع الكيوتي إل (P).
- ٢- تأثير استبدال جين الكيوتي إل Substitution Effect of QR.

٣- تباين الخطأ σ_w^2 . وان المعادلة السابقة تعطى تقدير تقريبي للثوابت، وإن التقدير الادق يحتاج الى استخدام إى أم الجورثيم EM algorithm وسوف يأتي شرحه لاحقاً.

الباب الرابع المركز وخرائط المسافات

الباب الرابع المركز وخرائط المسافات

Marker and Interval Mapping

يعتمد هذا التحليل علي معرفة تكرار زوج من المراكز القريبة من بعضها والتي تحصر بينها كيوتي إل فمثلا لو كان هناك اثنين من المراكز A, B تقع بينهما كيوتي إل وكانت المسافة بين المراكز A والكيوتي إل q هي r_1 والمسافة بين المراكز B والكيوتي إل q هي r_2 وان وضع الكيوتي إل بين المراكز يمكن تمثيله بالوضع النسبي بين المراكز A, B حيث أن $P_1 = r_1/r$ وأن $1 - P_2 = r_2/r$. وأن $r = r_1 + r_2 - 2r_1r_2$ أو أن $r = r_1 + r_2$ عند عدم حدوث عبور مزدوج Double Crossing Over ولو كان هناك ثلاثة مواقع A, B, C مرتبطة وراثيا وتصبح قيم التوافق الوراثية هي r_{AB}, r_{AC}, r_{CB} نتيجة للعبور وتصبح قيمة $r_{AC} = r_{AB} + r_{CB} - 2r_{AB}r_{CB}$ حيث أن $r_{AB}r_{CB}$ هي القيمة المتوقعة للعبور المزدوج أي العبور بين A, B وكذلك العبور بين B, C معا. وتتحرف القيمة الملحوظة عن القيمة المتوقعة حيث يمكن قياس هذا الانحراف بمعرفة قيمة التداخل Interference حيث تصبح قيمة $AC = r_{AB} + r_{CB} - 2C r_{AB}r_{CB}$ حيث أن C هي معامل المصادفة Coincidence وأن $C-1$ هي معامل التداخل Interference وعند عدم وجود التداخل تصبح قيمة صفر $C-1 = 0$ وتصبح قيمة $C=1$ وتصبح قيمة $2C r_{AB}r_{CB} = r_{AB}r_{CB}$ والتداخل يرجع إلي التداخل بين A, B من ناحية وبين B, C من ناحية أخرى.

معادلة المسافات في الخريطة الوراثية Distance of Genetic Map:

لو رمزنا لمعدل حدوث العبور بالرمز λ عندئذ يصبح احتمال عدم حدوث العبور بالرمز $e^{-\lambda}$

$$P(\text{non Crossover}) = e^{-\lambda}, \text{ واحتمال حدوث العبور هو } e^{-\lambda}$$

$$P(\text{Crossover}) = 1 - e^{-\lambda}$$

ويصبح عدد التوافق الوراثية المتوقعة $r = 0.5 (1 - e^{-2m})$

وتصبح قيمة Haldane Distance (m) $m = -0.5 \ln(1 - 2r)$ حيث أن r معدل

التوافق الوراثية.

والضرب في 5. يرجع الى انه عند حدوث عبور واحد في حالة وجود زوج من الكروموسومات المتشابهة، ينتج عن ذلك نصف العدد من الجاميطات ذات التوافق الوراثة ويمكن باستخدام طريقة هالدين Haldane معرفة المسافة بين الجينات علي الخريطة الوراثة.

تحديد مواقع الكيوتي إل باستخدام خرائط المسافات للماركرز: الإنحدار الخطي:

يستخدم الإنحدار الخطي للقيم المظهرية Phenotype للأفراد على القيم الوراثة Genotype وهي إحدى الطرق التي تعطى ثوابت لها خصائص الثوابت المحسوبة من الحدة العظمى Maximum Likelihood

ويمكن أن تستخدم المعادلة الخطية $i = a + b g_i + e$

حيث أن قيمة g_i هي قيمة دلالية Indicator تأخذ قيم (0, 1) لوجود أو عدم وجود الماركر وقيمة b ترمز الى تقدير التأثير المظهري لاستبدال الاليل الفردي لقيم الكيوتي إل ويكون الحل لنموذج الانحدار السابق هو تقدير الثوابت

$L(a, b, \sigma^2)$ وهي تقديرات لقيم الحدة العظمى $L(a, b, \sigma^2)$

حيث أن $L(a, b, \sigma^2) = \prod_i Z((i - (a + b g_i)), \sigma^2)$

$$z(x, \sigma^2) = 1 / (\sqrt{2\pi\sigma^2}) \exp(-x^2 / 2\sigma^2)$$

وان قيمة LOD تستخدم لتحديد وجود الكيوتي إل من عدمه فمثلا في الخلط الرجعي Backcross وتصبح قيمة

$$LOD = \log_{10} (L(a, b, \sigma^2) / L(\mu, 0, \sigma^2))$$

حيث إن σ^2 ، تباين e ، σ^2_{B1} تباين النسل الناتج من الخلط الرجعي للسلالتين A, B مع أحد الأباء $A * (A * B)$ أو $B * (A * B)$

ولو أن قيمة $LOD > T$ حيث أن قيمة T هي قيمة حدية Threshold value محددة مسبقا. وتتوزع قيمة $LOD \sim \chi^2$ بدرجة حرية واحدة ويمكن اختيار القيمة الحدية Threshold (T) من المعادلة :

$$T = 1/2(\log e)(Z_{\alpha}^2) \text{ حيث أن قيمة } \alpha = .5$$

LOD=logarithm of ODD وهو تقدير إحصائي يستخدم للاستدلال علي وجود الكيوتي إل من عدمه. المكان الذي له LOD عالي وموجب يكون الأكثر احتمالية لوجود الكيوتي إل. وهنا يجب أنه يتم تحديد ارتباط إحصائي بين الماركر والكيوتي إل، ولم نجد الجين نفسه وهناك مصادر ممكن أن تؤدي لحدوث الخطأ في تحديد الاستدلال الإحصائي لوجود الكيوتي إل:

- ١- من الممكن أن يتواجد اثنين أو أكثر من الكيوتي إل ولهم إشارة التأثير نفسها (positive or negative effects) أى كيوتي إل فى حالة Coupling. وهنا لا يمكن للتحليل الإحصائي أن يكشف عن وجود كيوتي إل واحدة فى وسط اثنين من الكيوتي إل الحقيقية. وهذا ما يعرف بالكيوتي إل الشبح Ghost QTL وهو ما ينتج عنه خطأ من النوع الأول Error of Type I. والخطأ من النوع الأول يحدث نتيجة للاستدلال علي وجود موقع للكيوتي إل حيث لا توجد كيوتي إل حقيقة وهو ما يعرف بالموجب المزيف False Positive. وعند حدوث خطأ فى عدد الكيوتي إل ينتج ما يسمى بالخطأ من النوع الثاني Type II.
- ٢- الكيوتي إل الرئيسة غير المرتبطة تضخم قيمة التقدير الإحصائي. وقد يحدث ارتباط عفوي نتيجة للانحراف من القيمة المتوقعة لنسبة الإنعزال الوراثي لاي زوج من المواقع على الجينوم. وهذا يحدث نتيجة وجود عشائر صغيرة أو وجود اى خلل غير متوقع فى الإنعزال الوراثي. ويؤدي هذا أيضا إلي ظهور الكيوتي إل الشبح Ghost QTL.
- ٣- لو كان هناك اثنين من الكيوتي إل ولهما عكس الإشارة QTL in Repulsion Phase عندها يصبح التأثير لهما معا قريبا من الصفر.
- ٤- تحديد مواقع الكيوتي إل فى خرائط المسافات هو تحديد متوسط تأثير كل الكيوتي إل الموجودة فى المنطقة من الكروموسوم تحت الدراسة وليس هناك طريقة لفصل تأثير كل كيوتي إل علي حدة والتأثير الملاحظ هو مجموع تأثير كل الكيوتي إل الصغيرة التأثير معا ولو أمكن إجراء التجربة عدة مرات لنجد قمم قصوي لقيم LOD فى موقع مختلف عن الموقع السابق.
- ٥- لوان المحتوى المعلوماتي Information Content منخفضا فى المنطقة التي تحتوي علي الكيوتي إل نجد أن القمة تتجه الى المنطقة الأكثر معلوماتية.

تحديد عدد الكيوتى إل المرتبطة وراثيا مستخدما الإنحدار القياسى لماركر-
الصفة:-

$Z_j = \mu + \sum_{k=1}^n b_k x_{kj} + e_j$ حيث Z_j يترمز لعدد الأفراد، b_k هو معامل الإنحدار
والذى منه يمكن معرفة إذا كان الماركرز تحصر كيوتى إل. أيضا b_k يمكن ان
تظهر التقدير المباشر لتأثير الكيوتى إل وموقعها.

مثال :

فى تجربة محاكاة Simulation ل 2000 فرد من F_2 لثلاثة كروموسومات
على مسافات متساوية CM 25

CM (0.02 \approx c لمعادلة هالدين). الكيوتى إل وضعت على مسافات بين الماركرز
(15, 14), (14, 13), (8, 7), (5, 4), (2, 1). وكان تقدير معاملات الإنحدار المتعدد
ل 15 ماركرز هى كالاتى:

marker	1	2	3	4	5
bi	-0.2996	-0.1422	-0.0221	0.2209	0.1956
marker	6	7	8	9	10
bi	-0.00189	-0.1922	-0.2404	0.01	-0.0108
marker	11	12	13		14
bi	-0.0254	0.0371	0.3019	0.2644	0.337

لو نظرنا لكل زوج من معاملات الانحدار القريبة والتي لها الإشارة نفسها
وكان كلاهما معنويا ويختلفا عن الصفر

مما يعنى وجود كيوتى إل فى المسافات (2, 1), (5, 4), (8, 7), (14, 13), (15, 14).

والانحدار باستخدام التسعة ماركرز يعطى SSE نفسه للانحدار الكامل
مستخدما 15 ماركرز مما يشير الى انه ليس من الماركرز التى إستبعدت قريبة
من الكيوتى إل. (أو قريبا من الكيوتى إل المتعددة المرتبطة والتي تأثيرها أزال
بعضها البعض)

لكن إستبعاد أى من التسعة ماركرز ينتج عنه معاملات إنحدار لها SSE
معنويا (أى وجود مجموع مربعات الخطأ معنويا) مما يؤيد النظرية الفرضية بان

كل هذه المراكز قريبة من الكيوتى إلى وباستخدام هذه التسعة مراكز تصبح معاملات إنحدار هي:

marker	1	2	4	5
bi	-0.2975	-0.1323	0.2296	0.1962
marker	7	8		
bi	-0.2407	-0.2377		
marker	13	14	15	
bi	0.3145	0.264	0.3355	

ولوجود كيوتى إلى معزولة فى المسافات (2, 1), (5, 4), (8, 7) معزولة (لا يوجد دليل للكيوتى إلى فى المسافات القريبة) يمكن تقدير تأثير وموقع هذه الكيوتى إلى من المعادلة الآتية:

عند وجود كيوتى إلى لها تأثيرا تجمعيًا ووجود معاملات الإنحدار للمراكز المحاصرة للكيوتى إلى regression coefficients for the flanking markers والتي يمكن أن تستخدم مباشرة لتقدير تأثير وموقع الكيوتى إلى كالاتى:

لو فرضنا أن المراكز $i, i + 1$ تحصر كيوتى إلى معزولة فى عشيرة ال F2، تكون المسافة من المراكز i إلى الكيوتى إلى هو :

حيث :

$$c_i = .5 \left[1 - \sqrt{1 - \frac{4b_{i+1}\theta_i(1-\theta_i)}{b_{i+1} + b_i(1-2\theta_i)}} \right]$$

حيث أن $\theta_i = c_{i,i+1}$ هي المسافة بين المراكز.

وتقدير التأثير التجمعي للكيوتى إلى a مستقلا من تأثير السيادة عند الكيوتى إلى

هو

$$a^2 = \frac{[b_i + (1-2\theta_i)b_{i+1}][b_{i+1} + (1-2\theta_i)b_i]}{1-2\theta_i}$$

حيث أن كلا من b_i, b_{i+1} لها الإشارة نفسها مثل إشارة a .

وبتطبيق المعادلات السابقة نجد أن:

$$c_1 = .5 \left[1 - \sqrt{1 - \frac{4(-.1323).2(1-.2)}{(-.1323) + (-.2975)(1-2.02)}} \right] = .74$$

$$a_1^2 = \frac{[(-.2975) + (1-2.02)(-.1323)][(-.1323) + (1-2.02)(-.2975)]}{1-2.02}$$

$$= (.442)^2$$

$$a_1 = -.442$$

$b_1, b_2 < 0$ كذلك الكيوتى إلى فى المسافة للمركز (4, 5) نجد ان قيم

$C_4 = .105$ & $a_4 = .446$ وان الكيوتى إلى فى المسافة (7, 8) نجد ان

$$a_7 = -.494 \text{ \& } C_7 = .112$$

ويلاحظ ان القيم المقدرة تقترب من القيم الحقيقية التى إستخدمت فى تجربة المحاكاة Simulation حيث كانت القيم هى:

$$C_1 = .07 \text{ \& } C_4 = .11 \text{ \& } C_7 = .11, \text{ \& } a_7 = -a_4 = -a_1$$

الباب الخامس
خرائط المسافات لموقع الكيوتى إل
فى الخرائط غير المكثفة

الباب الخامس

خرائط المسافات

لموقع الكيوتي إل فى الخرائط غير المكثفة

وهنا يتم تحديد الحدة العظمى لكل كيوتي إل (المحصورة بين اثنين من الماركيز) فى كل موقع من الجينوم بينما الكيوتي إل التي تتواجد فى موقع آخر على الجينوم يكون لها تأثير تداخل مما يؤدي لحدوث تحيزا فى موقع وتأثير الكيوتي إل. وتستخدم هذه الطريقة عندما تكون الخريطة ليست مكثفة Sparse or Not Dense Map حيث ندر الحدة العظمى للكيوتي إل عند مواقع متعددة داخل المسافة المحصورة بين الماركيز للحصول على ما يسمى البروفيل Profile للحدة العظمى للكيوتي إل QTL Likelihood Profile ويوضح المثال التالي:

خطوات تحديد موقع الكيوتي إل :

إستخدام خرائط المسافات وحساب الحدة العظمى لتحديد موقع الكيوتي إل وتأثيرها فى عشائر القطعان لماشية الحليب، وذلك باستخدام عائلات أنصاف الاشقة باستخدام نظام الحفيدة وهنا نحتاج إلى الخطوات التالية:

١- معرفة عدد الطلاق وعدد الأبناء الذكور لكل طلوقة:

ونسبة تباين الكيوتي إل إلى التباين المظهري وأخيرا يجب معرفة المسافات بين الماركيز والكيوتي إل ومن هذه المسافات يمكن معرفة معدل التوافق الوراثية r_1, r_2, r ومنها يمكن حساب الاحتمال الشرطى للاليلات Conditional Probability معطيا نوع الجاميطات للماركيز التي تحصر الكيوتي إل. الطلاق ليست بينها علاقات نسب Unrelated و أنها خليطة لكل مواقع الماركيز.

مثال فى إحدى التجارب تم استخدام 6 طلاق هولستين وكل طلوقة لها ما بين 71-74 (n=433) ابنا. لذلك توافر 6 عائلات، وبالتالي 6 تأثير استبدال للكيوتي إل QTL Substitution Effects. وحدد الجينوتيب Genotyping للطلاق الاباء Sires وللأبناء Sons لعدد 69 مايكروستاليت ماركيز موزعة على 12 كروموسوم هى على الترتيب (1, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 15, 17, 20, 26, 23) ومسحت الماركيز مسافة 867.4 cM من الجينوم وكان هناك 2-9 ماركيز للكروموسوم.

عدد الاليلات الملاحظة لكل ماركرز تراوح بين 15-2 ايل وتم مسح الجينوم لكل 1 cM مسافة بين الماركرز.

كان المتوسط والانحراف المعياري للقيم المظهرية للصفات تحت الدراسة. خمسة صفات متوسطهم (3.7 ± 16) , (9.6 ± 11.9) , (9.8 ± 15.2) , (275 ± 408) (3.19 ± 0.06) وهى صفات كمية الحليب ومحصول الدهن ومحصول البروتين ونسبة الدهن ونسبة البروتين مثلاً. ويتوافر الآن نوعين من البيانات هما:

- ١- الملاحظات المظهرية عن الصفات الكمية.
- ٢- معلومات عن الماركرز التى تم تحديدها عن طريق المايكروستاليت. تم استخدام النموذج التالي:

٢- النموذج الإحصائي والافتراضات:

لو كانت قيمة الملاحظة Y_{ij} للابن $j = (1, \dots, n_i)$ i للطلوقة $i = (1, \dots, k)$ يمكن التعبير عنها بالنموذج الاحصائي التالي:

$$Y_{ij} = X'_{ij}B + \varepsilon_{ij}Z'_{ij}a + e_{ij} \quad (1)$$

متجه العوامل المحددة vector of fixed effects ويمكن أن يشمل المتوسط العام ومتوسط عائلات انصاف الاشقة $B =$

صف row vector للمصفوفة X المناظر ل Y_{ij}

متجه لعمود column vector لتأثير الكيوتي إلى $\alpha = (a_1, a_2, \dots, a_k)$

صف row vector للمصفوفة Z المناظر ل Y_{ij}

$\varepsilon_{ij} =$ دليل لمتغير وهذا الدليل (=1) لو تورث الأب الأليل Q_1^1 من الطلوقة i والدليل (= صفر) لو تورث الأب الأليل Q_1^2 من الطلوقة i .

$$E_{ij} \sim N(0, R\sigma^2)$$

$DYD = Y_{ij}$ أو تمثل القيمة التربوية.

$Daughter Yield Deviation = DYD$ وهى تمثل مظهر البنات مصححاً لقيمة العوامل المحددة والتأثيرات العشوائية غير الوراثية للبنات والتأثيرات الوراثية للأمهات.

قيمة الاعتماد $r_{ij} =$ أو هى reliability

وقيمة (σ^2_{ij}) هي $\sigma^2_{ij} = \sigma^2 / r_{ij}$ & . $R = \text{diag}(1/r_{ij})_{n \times n}$ وقيمة $N = \sum_{i=1}^k n_i$ وقيمة $r_{ij} = (1 + 0.25(m-1)/h^2)/m_{ij}$ وقيمة m_{ij} تمثل عدد البنات المستخدمة في حساب قيمة DYD للابن ij . الطلائق غير مرتبطة وتزاوجت عشوائيا مع الأمهات.

٣- حساب الاحتمال الشرطي لاليات الكيوتي إل معطا نوع الجاميطه للماركرز التي تحصر الكيوتي إل:

Marker(M)	Pr(M)	Pij=Pr(Q1/M)	1- Pij=Pr(Q2/M)
M_1N_1	$(1-r)/2$	$(1-r_1)(1-r_2)/(1-r)$	$r_1r_2/(1-r)$
M_1N_2	$r/2$	$(1-r_1)r_2/r$	$r_1(1-r_2)/r$
M_2N_1	$r/2$	$r_1(1-r_2)/r$	$(1-r_1)r_2/r$
M_2N_2	$(1-r)/2$	$r_1r_2/(1-r)$	$(1-r_1)(1-r_2)/(1-r)$

معدل التوافق للكيوتي إل مع الماركرز ١ & ٢ هو r_1, r_2 بينما هي معدل التوافق بين الماركرز التي تحصر الكيوتي إل

٤- حساب الحدية العظمى للثوابت :

عند وجود بيانات الماركرز والملاحظات المظهرية كما هو موضح في الخطوة (1) تصبح قيم الحدية العظمى للثوابت Likelihood of the Parameters $(\beta, \alpha, \sigma^2)$ كما هي في المعادلة (2):

$$L(\beta, \alpha, \sigma^2 / y, M) = \prod_{i=1}^k \prod_{j=1}^m (2\pi\sigma_y^2)^{-1/2} \left\{ P_{ij} \exp \left[-\frac{1}{2\sigma_y^2} (Y_{ij} - X'_{ij}\beta - \alpha_i)^2 \right] + (1 - P_{ij}) \exp \left[-\frac{1}{2\sigma_y^2} (Y_{ij} - X'_{ij}\beta)^2 \right] \right\} \quad (2)$$

حيث أن P_i هو الاحتمال الشرطي للابن ij انه تورث الاليل الأول من الطلوقة مستدلا عليه من معلومات الماركرز. وانه لكل مكان كيوتي إل اختبرت نجد ان P_i حسبت من اقرب زوج من الماركرز المعلوماتية Informative

Markers للابن z للطلوقة i وتستخدم معادلة (هالدين) لتحويل المسافات الوراثية الى معدل توافق وراثية.

٥- استخدام إى إم الجوريثم EM algorithm لتقدير ثوابت الكيوتى إل: وهنا يعامل الكيوتى إل جينوتيب كبيانات غائبة Missing Data ويستخدم الالجوريثم EM لحساب الحدبة العظمى للاحتمال الشرطى المتوقع للوغارتيم الحدبة العظمى للبيانات الكاملة مع أخذ البيانات الغائبة فى الاعتبار فى المعادلة (4):

The Conditional Expectation of the Log-likelihood for the Complete Data with Respect to Missing Data

$$Q(\theta / \theta^{[l]}) = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} \left\{ \log \left[\phi \left(Y_{ij} / \beta, \alpha, \sigma^2 \right) P_{ij} \right] \pi_{ij}^{[l]} \right. \\ \left. + \log \left[\left[\phi \left(Y_{ij} / \beta, \sigma^2 \right) (1 - P_{ij}) \right] (1 - \pi_{ij}^{[l]}) \right] \right\} \quad (3)$$

Where

$$\pi_{ij}^{[l]} = P_{ij} \phi \left(Y_{ij} / \beta, \alpha, \sigma^2 \right) / P_{ij} \phi \left(Y_{ij} / \beta, \alpha, \sigma^2 \right) \\ + (1 - P_{ij}) \phi \left(Y_{ij} / \beta, \sigma^2 \right) \quad (4)$$

وبتفاضل قيمة $Q(\theta / \theta^{[l+1]})$ يمكن الحصول على أعلى قيمة Maximization والتي تؤدي الى حساب الثوابت من المعادلات التالية

$$\begin{bmatrix} X' R^{-1} X & X' R^{-1} U' \\ U' R^{-1} X & Z' R^{-1} U \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta^{[l+1]} \\ \alpha^{[l+1]} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X' R^{-1} y \\ U' R^{-1} y \end{bmatrix} \quad (5)$$

$$\sigma^{2[l+1]} = 1 / N (Y - X \beta^{[l+1]})' R^{-1} (Y - X \beta^{[l+1]}) + \\ \alpha^{[l+1]} Z' R^{-1} U^{[l]} \alpha^{[l+1]} - 2 (Y - X \beta^{[l+1]})' R^{-1} U^{[l]} \alpha^{[l+1]} \quad (6)$$

$$U^{[l]} = \{ \pi_{ij}^{[l]} Z_{ij}' \}_{N \times K}$$

المصفوفة $U =$ المصفوفة Z مع استبدال العناصر ١ في الصف z_{ij} بالعناصر π_{ij} . ويلاحظ ان الاحتمال الشرطى المتقدم π_{ij} Posterior Probability يتم حسابه فى الخطوة E بينما يتم حساب الثوابت $(\beta, \alpha, \sigma^2)$ فى الخطوة M من الألووريثم من المعادلة 5, 6. وقيمة $|t|$ ترمز إلى رقم الدورة الحسابية Iteration Cycle.

$(Y_{ij}/\beta, \alpha, \sigma^2)$ هى معادلة الكثافة Density Function للبيانات Y_{ij} معطى الثوابت $(\beta, \alpha, \sigma^2)$.

٦- تقدير قيمة اللود LOD :

يستخدم LOD كما سبق ذكره لتحديد وجود الكيوتي إل فى المكان تحت الإختبار حيث قيمة LOD المرتفعة فوق القيمة الحدية Threshold هو دليل وجود الكيوتي إل. ويستخدم LOD لاختبار وجود الكيوتي إل تحت النظرية الفرضية Null Hypothesis (H_0) أن $\alpha_i = 0$ حيث $i=1,2, \dots, k$ يعنى لا وجود للكيوتي إل التى تنعزل عند مكان الإختبار. بينما النظرية البديلة هو على الأقل وجود واحدة من تأثير كيوتي إل لطلوقة معنوية وتنعزل عند مكان الإختبار. ويمكن كتابة : LOD Score

$$LOD = \log_{10} \frac{L(\hat{\beta}, \hat{\alpha}, \hat{\sigma}^2)}{L(\hat{\beta}_0, \hat{\sigma}_0^2)}$$

للتوابت تحت النظرية الفرضية هى:

$$\hat{\beta}_0 = (X'R^{-1}X)^{-1}X'R^{-1}Y$$

$$\hat{\sigma}_0^2 = 1/N(Y - X'\hat{\beta}_0)'R^{-1}(Y - X'\hat{\beta}_0)$$

٧- تحديد القيمة الحدية:

القيمة الحدية المعنوية تحدد تجريبيا باستخدام إختبار التباديل Permutation Test حيث يكون هناك نوعان من البيانات البيانات المظهرية (DYD or BV)، وبيانات الجينوتيب Genotype. وتبقى بيانات الجينوتيب بدون تغيير، بينما يجرى إعادة تفنيط Shuffling القيم المظهرية للصفة داخل عائلات انصاف الأشقة وبالتالي نضمن عدم وجود مصاحبة coupling أو إرتبط بين الماركرز للمجموعة

المرتبطة وراثيا وبين القيمة المظهرية للصفة . يتم إعادة التفتيط مرات ومرات (N=10000) وكل مرة يتم حساب قيم LOD وبالتالي يمكن عمل توزيع تجريبي للاحصاء المحسوب في وجود النظرية الفرضية بعدم وجود كيو تي إل. يتم حساب القيمة الحدية للكروموسوم α chromosomewise critical value = 1% ، 5% ، 10% باخذ قيمة الكونثيل 99, 95, 90 من التوزيع التجريبي للاختبار الاحصائي المناظرة لقيم α Test Statistics وللوصول للجينوم الكامل له عدد n من الكروموسومات يستخدم تصحيح بنفروني Benferroni Correction حيث $P_{\text{genomewise}} = 1 - (1 - P_{\text{chromosomewise}})^n$.

وأظهرت بعض النتائج للتحليل السابق انه على الكروموسوم رقم 1 توجد كيو تي إل لمحصول البروتين تقع بين الماركر BM4307 والماركر INRA003، وكانت هناك كيو تي إل على الكروموسوم رقم 3 لنسبة البروتين تقع بين الماركر FCGR والماركر INRA023 . ووجد أيضا كيو تي إل على الكروموسوم رقم 3 لمحصول الحليب حول الماركر INRA003. كيو تي إل لمحصول الحليب وجدت على الكروموسوم 6 حول الماركر BM415 . وكان هناك كيو تي إل لمحصول البروتين على الكروموسوم رقم 20 عند الموقع 19 cM وتقع بين الماركر TGLA126, BM1225. وكان موقع محصول الحليب على الكروموسوم 20 في مسافة الماركر نفسها التي تؤثر على محصول البروتين مما يعزى الى تأثير التنفيذية على الكيو تي إل الفردية او تأثير مشترك لاثنتين من الكيو تي إل القريبة والمرتبطة مع بعضها. وعلى الكروموسوم 26.

وأظهر LOD Profile انه وصل لأعلى قيمة له على الموقع الأخير للماركر لمحصول الدهن (P=.010).

الباب السادس

تحليل الارتباط الوراثي

الباب السادس

تحليل الارتباط الوراثي Linkage Analysis

لرسم الخريطة الوراثية لتحديد موقع الكيوتي إلى يتم مسح وراثي للجينوم باستخدام تحليل الارتباط الوراثي Linkage Analysis ويتم تحديد موقع الماركرز علي الكروموسومات وذلك لكل من جيل الآباء والأبناء ثم يتتبع انتقال اليلات الجين المعلم (الماركر) من الآباء إلي الأبناء . ووجود فروق معنوية في القيمة المظهرية للصفة بين مجموعات النسل التي توارثت الأليلات المتقابلة للماركر من الأب المشترك يدل علي وجود ارتباط وراثي Linkage بين الجين الماركر والكيوتي إلى التي تؤثر في الصفة. وعموما احتمال تحديد الماركرز والكيوتي إلى بهذه الطريقة يكون منخفضا وذلك لوجود مسافات متباعدة بين الماركرز نفسها. وتحديد عدد اكبر من الماركرز نفسها علي الكروموسومات لايزيد من دقة تحديد الكيوتي إلى إذا كانت المسافات بين الماركرز متباعدة وذلك لوجود عدد قليل من التوافق الوراثية لبعد المسافات بين الماركرز المرتبطة بالكيوتي إلى والتي يجب أن تكون بين 1-2 cM.

وتحليل الارتباط الوراثي هو تحليل الإعتماضية Analysis of dependence أو تحليل عدم الإستقلالية في وراثة الجينات على المواقع الوراثية المختلفة بناءً علي التحليل المظهري للأفراد التي تعرف بينها علاقات نسب Pedigree Relationship. والإعتماضية بين الجينات على المواقع الوراثية المختلفة تعكس Synteny للمواقع المختلفة وتعتبر درجة الإعتماضية أو عدم الإستقلالية مقياسا للمسافات بين المواقع الوراثية المختلفة.

وعند توافر الماركرز في خريطة وراثية معينة وفي حالة إعتماذ توارث صفة معينة على مجموعة من الماركرز يمكن تحديد المواقع الوراثية للصفة أو الإستدلال عليها Inferred . ويعتمد التحليل الوراثي أساسا علي نظرية الإحتمال Probability Theory والإحصاء الإستدلالي Statistical Inference. بمعنى آخر تحليل الارتباط الوراثي هو التحليل الإحصائي للبيانات الوراثية ومن أهم خطوات هذا النوع من التحليل هو معرفة معدل التوافق الوراثية Recombination Rate الناتج عن حدوث العبور بين المواقع الوراثية المختلفة والتي يزداد معدلها كلما بعدت المسافة بين تلك المواقع الجينية. ويكون معدل العبور أقل من النصف ($r < .5$) عند وجود درجة من الارتباط Linkage بين أي موقعين علي الكروموسوم. وفي المواقع القريبة جدا من

بعضها يكون معدل التوافق (صفر $r=1$). وفي المواقع البعيدة تماما عن بعضها يكون معدل العبور ($r = 0.5$). ويتم حساب معدل التوافق الوراثية حتى يتم ترتيب المواقع الوراثية للصفة تحت الدراسة حيث في النهاية يتم تحديد المواقع الوراثية في ترتيبها الصحيح في الخريطة الوراثية.

أنواع التصميمات المستخدمة لمعرفة الماركرز في تحليل الارتباط الوراثي:

١- استخدام عشائر F2 من خلط عشيرتين من F1 أو استخدام الخلط الرجعي وذلك بخلط احد الابوين مع F1 وتتيح هذه الطريقة تحديد الكيوتي إلى التي ثبتت في أحد الانواع.

٢- استخدام نظام عائلات أنصاف الأشقة حيث ان الطلائق الخليطة للماركرز تتزاوج مع عينة عشوائية من الإناث ويجري الجينوتيبينج على النسل كله AI progeny genotyped.

٣- استخدام نظام الحفيدة حيث أن أباء الطلائق وأبنائهم تُقيم باستخدام الاختبار بالنسل. ويجري لها الجينوتيبينج، والتصميم الاول مهم في تحديد الكيوتي إلى الثابتة والمحددة في أحد الانواع. بينما التصميمان 2 و 3 مهمان في تحديد التباين الكيوتي إلى والتباين بها داخل العشائر.

٤- استخدام الخلط بين الأفراد التي تكون لها مظهر الصفة اوتوليفة الصفات في الأفراد المتباينة جدا عن بعضها أي من الافراد التي هي من خطوط منتخبة متنوعة تماما أو الخلط بين العشائر التي لها تباين واسع للصفات الهامة.

وفي العشائر المتباينة تستخدم فقط الطلائق الخليطة أو الجدود التي لها القوة المعلوماتية في عزل الماركر أو عزل الماركر والكيوتي إلى. وفي العائلات التي يكون فيها الماركر والكيوتي إلى في طور تزاوج اوتجاذب Coupling، نجد ان التأثير الملاحظ لاستبدال الاليل A1 بالاليل A2 يمكن أن ينقص انتاج الحليب بمقدار 500 كجم مثلا، بينما أخرى لو كان الماركر والكيوتي إلى في طور انفار repulsion يمكن أن يؤدي هذا الاستبدال الى زيادة الحليب ب 500 كجم.

أنواع الارتباط الوراثي :

أولا: الارتباط المتزن (Linkage Equilibrium (LE):

وهو الذي ينتج عنه ثبات تكرار الجينات عبر الاجيال وذلك في غياب الانتخاب في العشائر كبيرة الحجم ويستخدم الارتباط الوراثي لمعرفة مكان الكيوتي إلى على

الخريطة الوراثية QTL Mapping وذلك بتحديد توارث منطقة من الكروموسوم في البيانات الوراثية والتي يمكن تتبعها باستخدام الماركرز. وحيث وجد ان المنطقة التي تورث يعزى اليها أغلب التباين في البيانات المظهرية مما يشير الى أن أكثر المناطق إرتباطا بالكيوتى ال، أي انه في وجود الارتباط المتزن LE تكون برامج الماركرز-المساعدة للانتخاب (م أ س) داخل العائلات وهذا يتطلب بيانات كثيرة لتحديد طور الارتباط Linkage phase داخل العائلة Within Families. وكذلك قى حالة وجود كيوتى ال بعيدة المسافة عن الماركرز، أو في فقد تعقب الماركرز المرتبطة بال كيوتى ال علي مر الأجيال. ويلاحظ أنه في ال LE عندما يتسبب الإنتخاب الطبيعي في تغير تكرار أليل عند موقع معين لايتسبب هذا في تغير تكرار الأليل في المواقع الأخرى. لذلك فإن الارتباط المتزن يكون فيه التفسير والتحليل للتباين الوراثي سهلا وممكنا.

ثانيا: الارتباط غير المتزن (Linkage Disequilibrium (LD):

لتوضيح معنى الارتباط غير المتزن نبدأ أولاً بتوضيح معنى الهابلوتيب وهو فرد يحمل عددا من الأليلات لمواقع متجاورة فمثلا لوكان هناك ثلاثة مواقع A,B,C وكان للموقع A الأليلات A_1, A_2 ، وللموقع B الأليلات B_1, B_2 ، وللموقع C الأليلات C_1, C_2 فمثلا الفرد الذي له الأليلات A_3, B_5, C_2 هو $A_3B_5C_2$ يسمى هابلوتيب Haplotype ويكون تكرار الهابلوتيب $A_iB_jC_k$ في العشيرة هو P_{ijk} ويكون تكرار الأليل A_i هو $P_{i..} = \sum_{j,k} P_{ijk}$ والأليل B_j هو $P_{.j.}$ والأليل C_k هو $P_{..k}$ علي التوالي وتصبح قيمة $P_{ijk} = P_{i..}P_{.j.}P_{..k}$ ؛ عندئذ يكون التباين لهذه المواقع الثلاثة في حالة إتزان عشوائي وعندما تكون قيمة $P_{ijk} \neq P_{i..}P_{.j.}P_{..k}$ يكون التباين في هذه المواقع الثلاثة في حالة إتزان غير عشوائي ويسمي هذا الارتباط غير المتزن أو الطور الجامطي غير المتزن، أو المصاحبة الأليلية. وفي كثير من العشائر الوراثية نجد أن الارتباط غير المتزن يعتمد علي معدل التوافق الوراثية Recombination Rate. أي أن الارتباط غير المتزن هو المصاحبة غير العشوائية للجينات عند تكوين الجاميطات في العشيرة، أو ميول الأليل معين في موقع ما أن يجتمع مع الأليلات أخرى في مواقع أخرى بمعدل تكراري أكبر من معدل الحدوث نتيجة الصدفة.

ووجود عدد من الماركرز مبعثرة حول الكيوتي ال معا يكونا ماركر هابلوتيب ويمكن تكوين الماركر هابلوتيب بوجود كيوتي ال محصورة بين اثنين من الماركرز.

ويلاحظ أنه في حالة الإتزان العشوائي LE يمكن تحديد التباين عند كل موقع تماما وذلك بمعرفة تكرار الاليلات عند هذا الموقع حيث ان تكرار الهابلوتيب يمكن تقديره من ضرب تكرار الاليلات لهذا الهابلوتيب . ولو كان هناك اليلان لكل موقع من المواقع الثلاثة، يكون هناك ثلاثة ثوابت فقط لوصف العشيرة في حالة الإتزان العشوائي، أو الارتباط المتزن LE، بينما في حالة الارتباط غير المتزن LD يجب ان يكون وصف كامل لكل تكرارات الهابلوتيب، وكذلك يجب معرفة تكرار الاليلات وكذلك معدلات عدم الإتزان Disequilibrium Coefficient. لذلك بالنسبة للثلاثة مواقع A,B,C لوكان هناك اليلان لكل موقع يجب تحديد سبعة من الهابلوتيب لوصف العشيرة ويكون تكرار الهابلوتيب هو واحد صحيحا مطروحا منه مجموع تكرار السبعة هابلوتيب الاخرى. وفي الارتباط غير المتزن عندما يؤثر الانتخاب على موقع معين يتسبب ذلك في تأثير قوي علي التكرار الأليلي في المواقع الأخرى.

تقدير الارتباط غير المتزن بين الماركر والكيوتي إل:

لو رمزنا لاليلي الماركر بالرمز M1,M2 ولاليلي الكيوتي إل بالرمز Q1,Q2 يمكن تحديد الارتباط غير المتزن بين الكيوتي إل والماركر بحساب المصاحبة المعنوية و القيمة المعنوية χ^2 فمثلا المحسوبة من جدول 2×2 للحالة المرضية في وجود اليلي الماركر.

Marker status	Normal	Disease	Total
Allele A1	n_{N1}	n_{D1}	n_1
Allele A2	n_{N2}	n_{D2}	n_2
Total	n_N	n_D	N

$$\chi^2 = N(n_{N1}n_{D2} - n_{N2}n_{D1})^2 / n_1 n_2 n_N n_D$$

وتصبح قيمة الارتباط غير الوراثي Linkage Disequilibrium (\hat{D})

$$\hat{D} = \frac{n_{NI}}{n} - \frac{n_N}{n} \times \frac{n_I}{n}$$

إستخدام الارتباط الوراثي غير المتزن في تحديد ال كيوتي ال علي الخريطة الوراثية:

يسمح الارتباط الوراثي غير المتزن بإستخدام كل التوافيق الوراثية والتي حدثت عبر الأجيال قبل بدء التحديد الوراثي للماركر Marker Genotyping. ويمكن تحديد الارتباط غير المتزن بتقدير تأثير الماركر هابلوتيب علي الصفة الكمية، حيث أن الهابلوتيبس الذي يحتوي أليلات ماركر متطابقة. يتوقع أن يكون لها التأثير نفسه علي الصفة الكمية. لأن وجود أليلات متطابقة للماركرز يعنى أن المنطقة علي الكروموسوم التي تحتوي علي الماركر هابلوتيب QTL (بين الماركرز) تورث وتنتقل بالطريقة نفسها التي تنتقل بها الأليلات المتطابقة في الأب المشترك في حالة التربية الداخلية Identical by Descent - وبذلك يمكن - للهابلوتيب أن تحمل أليلات الكيوتي إل. ويسمح الارتباط غير المتزن - كما سبق ذكره - بإستخدام التوافيق الوراثية، ولكن يجب مراعاة أن الارتباط غير المتزن يتأثر تأثراً بالغاً بعوامل أخرى مثل مدي الخلط، والطفرة، والانتخاب، والدفع الوراثي Genetic Drift والتي تتسبب في مسافات واسعة بين الجينات وارتباط غير متزن وواسعاً. ويمكن توضيح حدوث الارتباط الوراثي غير المتزن بفرض وجود عشيرة قاعدية، وفي حالة ارتباط متزن (Linkage Equilibrium (LE وحدث إحدي الطفرات في أليلات الكيوتي ال نفسها مما يخلق كيوتي إل مغروسة Embedded في ماركر هابلوتيب معين، ثم حدثت توافيق وراثية عبر الأجيال المتلاحقة لذلك سيبقى الهابلوتيب الأصلي لجينات الماركرز القريبة من الكيوتي إل، وبالتالي في الجيل الحالي ستكون أليلات الماركرز في حالة ارتباط غير متزن مع أليلات الكيوتي إل.

دمج الارتباط الوراثي المتزن (LE) والارتباط الوراثي غير المتزن (LD):

وفي هذه الحالة يسمح بالانتفاع بالتوافيق الوراثية والتي حدثت داخل وخارج الأجيال المنسبة Pedigreed and Genotyped Generation وأي توافيق من تحليل الارتباط الوراثي Linkage Analysis and Linkage Disequilibrium والارتباط غير المتزن. وساعد هذا في تحديد دقيق لوضع الكيوتي إل لصفة إنتاج الحليب علي الكروموسوم رقم 6 (BTA6) قريبة من الماركرز BM143. والمثال التالي يوضح هذا النظام:

- ١- تستخدم الحيوانات في نظام الجدة والحفيدة Granddaughter Design وتستخدم الطلائق Elite Sire والتي لها عدد كبير من الأبناء Sons، والتي تم لها إجراء الإختبار بالنسل Progeny Tested Sons ولكل طلوقة (أبن) عدد كبير من البنات Daughter ومسجل لها البيانات للصفة الكمية (إنتاج الحليب مثلاً).
- ٢- تتبع نسب كل حيوان في الدراسة. حيث يتم حساب مصفوفة إحتمال تطابق الأليلات بالنسب (IBD) Identical by Descent بين كل زوج من الهابلوتيب عند موقع الكيوتي ال.
- ٣- تستخدم القيمة التربوية أو قيمة ال (PTA) Predicted Transmitting Ability المحسوبة من BLUP للأبناء كقيمة مظهرية.
- ٤- يجري الأختبار الوراثي Genotyping للماركرز لكل الطلائق، وكل الأبناء في المناطق علي الكروموسوم التي حول الكيوتي ال باستخدام البريمرز Primers وال ب س آر PCR.
- ٥- يحدد عدد الأليلات، ودرجة الخلط للطلائق الكبيرة Elite Sire.
- ٦- تسجل كل التوافيق الوراثية بين كل الماركرز.
- ٧- ترتب الماركرز، وتحدد المسافات بين الماركرز، باستخدام معادلة هالدين Haldane Function مثلاً (هناك معادلات أخرى).
- ٨- فرض النموذج الإحصائي Statistical Model وحساب الحدبة العظمى Maximum Likelihood للبيانات في وجود الكيوتي إل، أو في عدم وجود ال الكيوتي إل.
- ٩- تحسب لكل الهابلوتيب $LOD = 2 \log (\text{Likelihood with without QTL})$ أو $QTL / \text{Likelihood}$ أو ما يسمى Log of Odd Ratio أو Log Likelihood Ratio Test والتي تتوزع χ^2 بدرجة حرية واحدة. حيث أن وجود قيمة معنوية يعني وجود كيوتي إل في هذا المكان .

خرائط الارتباط الوراثية :

يمكن تقسيم خرائط الارتباط الوراثية إلى:

١ - خرائط ارتباط وراثية مكثفة Dense Linkage MAP:

هي خرائط تحدد مدى قرب الجينات المختلفة من بعضها، وارتباط الجينات بعضها بعضًا ارتباطًا وثيقًا. بمعنى آخر ان هناك بعض الماركرز تكون قريبة جدا

من اليلات ال كيوتي ال، ومن المحتمل ان تكون في حال عدم اتزان LD، وبالتالي لا توجد حاجة لايجاد طور ارتباط Linkage phase لكل عائلة من عائلات التربية خصوصا تربية الاباعد وتكون هذه الجينات، أو الماركز مرتبطة ارتباطا موجبا وعليه يمكن انتخاب كل العائلات بدون الحاجة الي طور الارتباط، ويمكن تجميع الماركز في هابلوتيب علي الكروموسوم فيما يعرف بقطع الهابلوتيب علي الكروموسوم Haplotype chromosome Segment. وبالتالي نجد الهبلوتيب علي هذه القطع من الكروموسوم تكون مرتبطة بالنسب (IBD) حيث تحتوي علي الماركز هابلوتيب نفسه ويمكن ان تحمل اليلات كيوتي إل.

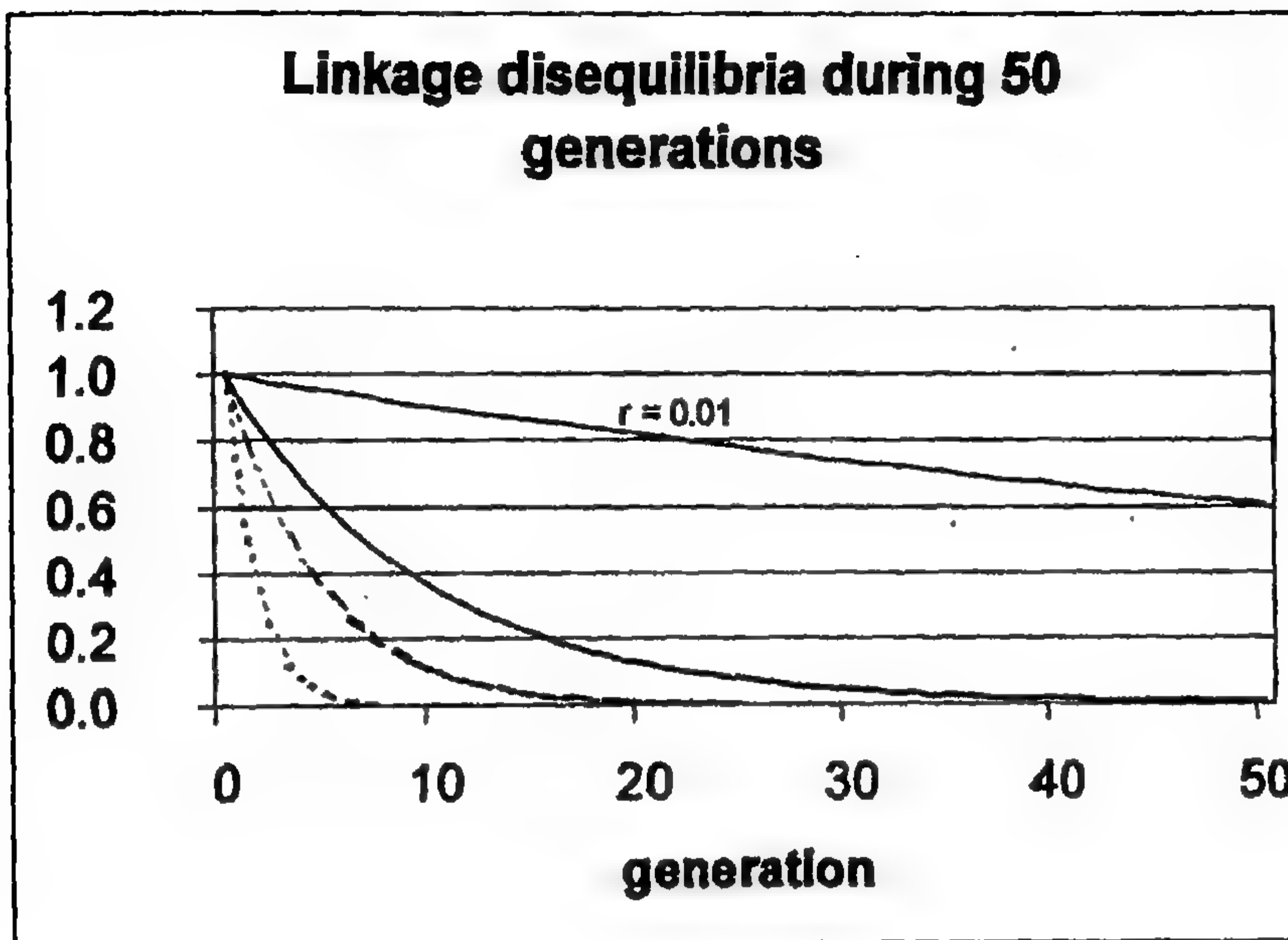
ويلاحظ ان الخرائط المكثفة تحدد عدد كبير من القطع الكروموسومية وبالتالي يكون هناك عدد كبير من تاثيرات هذه القطع يجب تقديرها ويكون عددها اكثر من عدد البيانات المظهرية للنقط المراد معرفة تأثيرها. ومن ثم لا يكون هناك عدد كاف من درجات الحرية لتقدير تأثير اليلات بواسطة الارتباط غير المتزن.

٢ - خرائط ارتباط وراثية غير مكثفة Sparse Linkage Map:

تكون اليلات الماركز واليلات ال كيوتي ال متباعدة عن بعضها، أو متناثرة وعليه يجب معرفة طور الارتباط Linkage phase لكل عائلة والتي سوف تستخدم الماركز فيها للانتخاب.

عشائر الابقار لها حجم فعال قليل في العشيرة Lower Effective population sizes ولكن لها حجم عائلي كبير (بنات كل طلوقة) والتي بدورها مسؤولة عن الارتباط غير المتزن ومركز علي مستوي الجينوم كله Extensive Genome Wide Linkage Disequilibrium والتي تسهل رسم خريطة وراثية دقيقة وذلك في وجود خريطة للماركز قليلة الكثافة Low Density Marker Map.

ويوضح الرسم التالي العلاقة بين عدد الأجيال ودرجة الارتباط غير المتزن





الباب السابع إستراتيجيات استخدام الماركز

الباب السابع

إستراتيجيات استخدام الماركرز

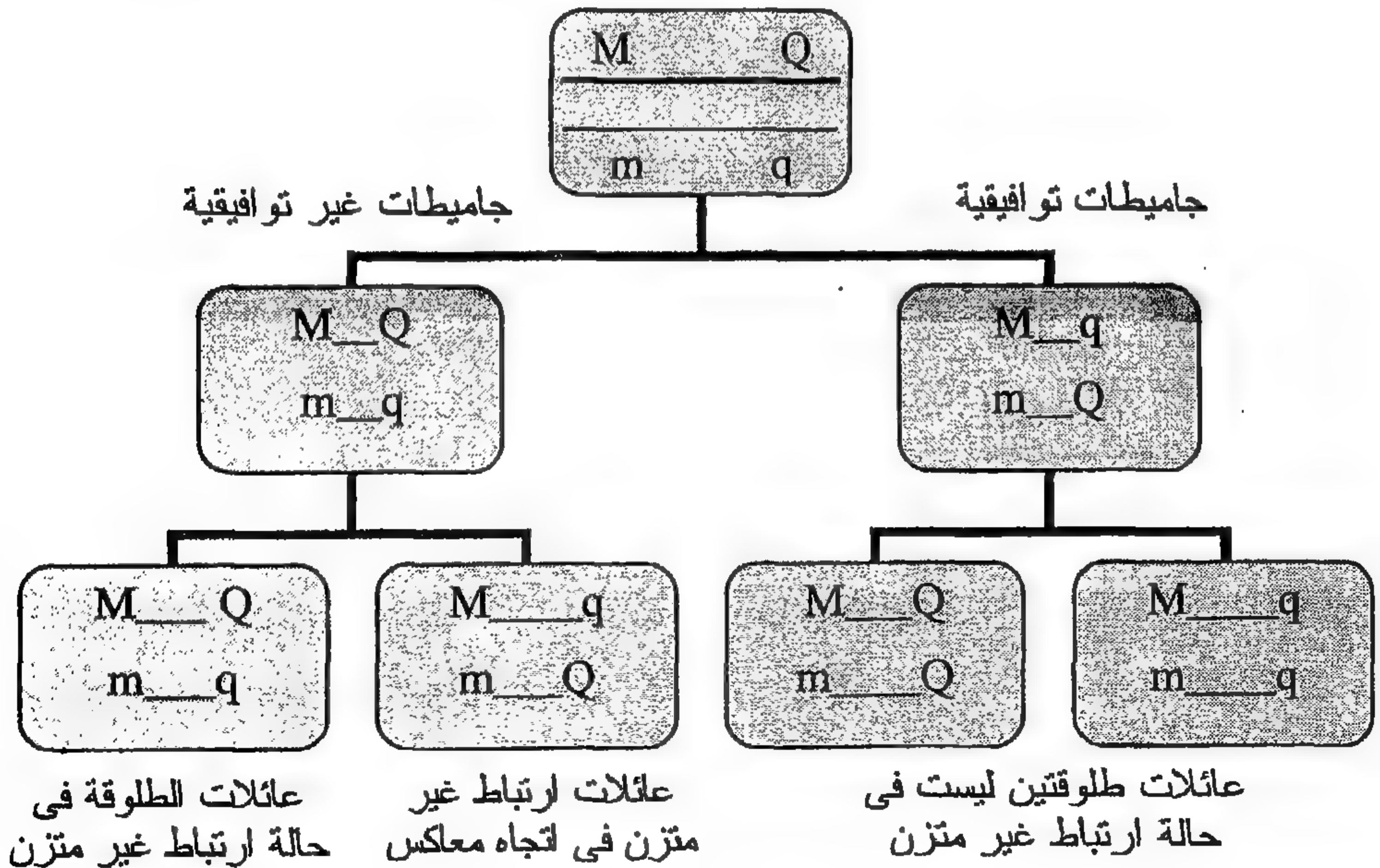
من العوامل الهامة لتحديد الكيوتى إل وبرامج الماركرز المساعدة للإنتخاب MAS هو مدى حدوث الارتباط غير المتزن (Linkage Disequilibrium(LD) فى العشيرة مع مواقع لها أثرها فى التباين الوراثى للصفة.

الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن :

ولو إعتبرنا ان اليلات الماركر هي M, m واليلات الكيوتى إل هي Q, q وعلى الكروموسوم نفسه مرتبطة مع الماركر والفرد الخليط لكلا من الموقعين هو $MmQq$ ، والاليلات عند الموقعين يمكن ترتيبها فى هابلوتيبس (Haplotypes) على الكروموسمين لزوجين متماثلين يحملهما فرد معين، فالفرد الذى له التركيب $MmQq$ يكون له الهابلوتيبس (أكثر من هابلوتيب) MQ/mq ، أو يكون له الهبلوتيبس Mq/mQ . وهذا الترتيب يسمى طور الماركر - كيوتى إل - marker-QTL Linkage phase. وترتيب اليلات الهبلوتيبس مهم لأن النسل يتورث واحد من الهابلوتيبس التى يحملها الاب. وفى العشائر التى هى فى ارتباط متزن (LE) تتوزع الاليلات فى موقعين عشوائيا إلى الهابلوتيبس، بمعنى آخر أن الكروموسوم أو الهابلوتيبس الذى يحمل الاليل M ليس من المحتمل أن يحمل الاليل Q بتكرار مختلف للكروموسومات التى تحمل اليل الماركر m ، وتكرار الهابلوتيب MQ ، يساوى حاصل ضرب تكرار الاليل M ، وتكرار الاليل Q . لذلك لو كان الماركر والكيوتى إل فى حالة ارتباط متزن، لا يكون هناك قيمة فى معرفة الماركر جينوتيب للأفراد لأنه لا يعطى معلومات عن جينوتيب الكيوتى إل. ولو كان الماركر والكيوتى إل فى حالة ارتباط غير متزن، لا يكون هناك فرق فى احتمال وجود الاليل Q على الكروموسومات، التى تحمل اليلات الماركر M ، أو تحمل الماركر m . لذلك يمكن توقع فروق بين متوسط القيمة المظهرية للماركر جينوتيبس. وقد سبق أن ذكرنا أن أهم العوامل التى تتسبب فى عدم الاتزان هى: الطفرة، والصدفة، والانتخاب، والتربية الداخلية، والخلط، والهجرة. وأهم العوامل المسؤولة والتى تتسبب فى تقليل ارتباط عدم الاتزان LD هو حدوث التوافيق الوراثية Recombination والتى تعمل على ترتيب الهابلوتيبس فى كل جيل. ومعدل نقص الارتباط غير المتزن يعتمد على معدل التوافيق بين المواقع الوارثة وفى المواقع

المرتبطة ارتباطاً وراثياً شديداً نجد أن الارتباط غير المتزن يستمر مقاوماً للنقص Persist Decay لعدة أجيال.

بالرغم من أن الماركر والكيوتي إلى المرتبطة ممكن أن تكون في ارتباط متزن عبر العشائر، نجد أن ماركر الارتباط غير المتزن، دائما يتواجد داخل العائلات حتى بين المواقع البعيدة عن بعضها. لو كان هناك طلوقة خليط له الهابلوتيس MQ/mq وهذا الجينوتيب لهذا الطلوقة هو متطابقا للجيل F1 (الخليط بين خطي مرباة تربية داخلية). والطلوقة سوف ينتج أربعة أنواع من الجاميطات: اثنان منهم غير توافقيين non-recombinants وهما MQ, mq وأثنين توافقيين recombinants وهما Mq, mQ. وكجاميطات غير توافقيية سوف يكون لهما تكرار أكثر ويتوقف ذلك على معدل التوافق الوراثية recombination rate بين الماركر والكيوتي إلى، وهذا الطلوقة سوف تنتج جاميطات في حالة ارتباط غير متزن LD ويمتد هذا الارتباط غير المتزن لمسافات طويلة عند جيل واحد من التوافق الوراثية. والشكل التالي يوضح ذلك ماركر - كيوتي إلى ارتباط غير متزن داخل العائلات



ويستواجد هذا النوع من الارتباط غير المتزن فقط داخل العائلة. والنسل من طلوقة آخر Mq/mQ سيظهر ارتباط غير متزن آخر. ولكن الارتباط غير المتزن سيكون في اتجاه آخر LD in opposite direction لوجود طور ارتباط ماركر -

كيوتى إلى مختلف Marker-QTL Linkage Phase فى الطلوق. من ناحية أخرى عائلات الطلوق MQ/mQ والطلوق Mq/mq سوف لا تكون فى حالة ارتباط غير متزن LD لعدم إنعزال الكيوتى إلى فى هذه العائلات. وعند تجميع كل هذا عبر العائلات هذه الأربعة أنواع من الارتباط غير المتزن LD سوف تزيل بعضها بعضا Cancel each other out مما يؤدي إلى حدوث ارتباط متزن عبر العشيرة ومع ذلك الارتباط غير المتزن داخل العائلة يمكن أن يستخدم لتحديد كيوتى إلى وإستخدام (م ا س) MAS مع الأخذ فى الاعتبار الفروق فى طور الارتباط.

وتطبيق الوراثة الجزئية لغرض التحسين الوراثي يعتمد على معرفة الجينوتيب للأفراد لمواقع وراثية محددة وهناك ثلاثة أنواع مواقع جينية يمكن تمييزها وهى:

١- الماركرز المباشرة **Direct Markers** وهى المواقع التى تشفر Code طفرة وظيفية بلومورفوزمية ومن الصعب تحديدها لصعوبة إثبات السببية وتحديدها، وقلة الأمثلة عليها، فيما عدا الجينات الفردية التى تؤثر فى الصفات Single-Gene Traits. وبمعنى آخر، أن الماركر يحدد تماما الجين أو عندما يكون اليل الماركر M واليل الكيوتى إلى Q دائما مع بعضهما. وهذا يحدث دائما عندما يقيس الماركر البلومورفيزم داخل الجين الذى يسبب التأثير. ويدلنا دائما الماركر المباشر على جينوتيب الكيوتى إلى. ويفضل استخدام الماركر المباشر الماركر المرتبط Linked Marker بالكيوتى إلى لو كانت حقيقة هى ماركرز لجينات ذات تأثير رئيسى Major Gene Effects. وبمفهوم آخر لو كان الماركر الوراثى داخل الجين نفسه عندئذ يكون هناك أدلة قوية على استخدام الجين لأنه يمكن فى معظم الحالات معرفة و بدرجة ثقة 100% أي من الحيوانات يمتلك الاليل الجيد للجين. وقبل الاتجاه إلى إدخالها برامج التربية يجب تحديد تأثير هذه الجينات على الصفات المختلفة وذلك فى كل بيئة إنتاجية، وكذلك فى كل نوع، وبعدها يمكن الاتجاه نحو إدخال معلومات الماركر لتحديد أى من الحيوانات يمكن إنتخابها للتربية. ومن أهم مزايا الماركر المباشر هو استخدامها بدون معرفة سجلات النسب أو قياسات للصفة بالرغم من أهمية هذه المعلومات فى تحديد وضبط تأثير الجين الرئيسى فى الأنواع المختلفة، و الخطوط الوراثية المختلفة، أو النظم الإنتاجية المختلفة واستغلالها بعد ذلك.

٢- ماركرز الارتباط غير المتزن LD Markers. وتشمل المواقع التى فيها العشيرة فى حالة غير متزنة عشوائيا لطفرة وظيفية Functional Mutation. ويتطلب هذا الماركر مسح وراثى مكثف حيث تكون المسافة الوراثية بين

الماركر والكيوتي إلى هو (cM 1-5 بناءً على إمتداد ماركر غير متزن عشوائياً والذي يعتمد على تركيب العشيرة وتاريخها) ولتحديد الماركر يتطلب إرتباط وراثي قوى بينه وبين الطفرة المسببة Causative Mutation والتي تحدد كجين مرشح بولومورفيزمي Targeted candidate gene polymorphisms أو بواسطة خريطة الماركرز المكثفة High Density Marker Maps.

٣- ماركرز الإرتباط المتزن LE Markers. وتشمل المواقع والتي فيها العشيرة في اتزان عشوائى لطفرة وظيفية وذلك في العشائر المرباة تربية متباعدة. ويمكن تحديد Detected هذا الماركرز على طول الكروموسوم باستخدام الخلط بين الأنواع، أو تحليل بيانات عائلات كبيرة من أنصاف الأشقة داخل النوع ويتطلب هذا المسح الوراثة خرائط للماركرز غير مكثفة Sparse Maps (على مسافات 15-50 cM وذلك بناءً على معلومية الماركر وتكاليف المسح الوراثة). و باستخدام ماركر الإرتباط المتزن أمكن تحديد معظم الكيوتي إلى الكبيرة والمتوسطة التأثير.

والجدول التالي يلخص إستراتيجيات لتحديد الكيوتي إلى في قطعان الحيوانات

نوع العشيرة	داخل الخليط		العشائر المتباعدة	
	الخلط الرجعي F2	داخل الخلط المتقدم	عائلات 1/2 الأشقة	إمتداد النسب
نوع الماركر	LD	LD	LD	LD
طول الجينوم	متسع الجينوم	متسع الجينوم	متسع الجينوم	منطقة الجينوم المرشح
كثافة الماركر	غير مكثفة	مكثف	غير مكثف	أكثر كثافة
نوع LD	متسع العشيرة	LD	داخل العائلة	LD
عدد الأجيال لمعدل التوافق المستخدمة في الخرائط	1	1 <	1	1 <
إمتداد LD حول QTL	طول	أصغر	طول	أصغر
وضوح الخريطة	ضعيف	أحسن	ضعيف	أحسن
			عال	

LD = ماركر الإرتباط غير المتزن
LE = ماركر الإرتباط المتزن

تحديد الكيوتى إل مستخدما LD ماركرز داخل الخليط :

الخلط بين الأنواع و التى تختلف فى الليل وكذلك تكرار الهابلوتيب يخلق إرتباط غير متزن مكثف فى العشيرة الخليطة. هذا الإرتباط غير المتزن يمتد لمسافة كبيرة، لان هذا يتطلب جيل واحد فقط من التوافق للوراثية فى F2. لذلك وبالرغم من أن هذه الماركرز ممكن يكون فى إرتباط متزن LE مع كيوتى إل داخل الأنواع الأبوية سوف يكون جزئيا فى حالة إرتباط غير متزن LD مع الكيوتى إل فى العشيرة الخليطة لو كان هناك اختلاف فى تكرار الماركر والكيوتى إل بين الأنواع. وهذا ماركر الإرتباط غير المتزن على متنوع العشيرة genome wide يمكن يؤدى إلى تحديد الكيوتى إل التى تختلف بين الأنواع الأبوية بناءً على المسح الوراثى بعدد محدود من الماركرز على طول جينوم (كل 15-20 cM). وهذا الإتجاه هو الأساس للإستخدام المكثف لـ F2 أو الخلط الرجعى بين الأنواع أو بين الخطوط لتحديد الكيوتى إل فى الخزائر والدواجن وماشية اللحم. والإستخدام المكثف لماركر الارتباط غير المتزن LD يمكن فيه تحديد الكيوتى إل التى على مسافة من الماركرز ولكن يحدد أيضا الدقة (الوضوح Map Resolution) التى فيها يحدد موضع الكيوتى إل. ومن المتوقع إستخدام مكثف أيضا لماركر الارتباط غير المتزن للعشيرة Population-Wide LD فى الخطوط المخلقة Synthetic lines أى الخطوط التى نتجت من الخلط حديثا. وبناءاً على عدد الأجيال منذ بدء الخلط، إمتداد ماركر الارتباط غير المتزن ينتهى بتقدم الأجيال وسوف يمتد إلى مسافة قصيرة عنها فى عشيرة الـ F2. وسوف يتطلب هذا خريطة ماركر أكثر كثافة لإجراء المسح الوراثى وبقوة إختبار مساوية كما فى F2 ولكنه يحدد أكثر دقة مكان لكيوتى إل.

تحديد الكيوتى إل بإستخدام ماركر الارتباط المتزان LE فى العشائر المتباعدة :

حيث أن أطوار الارتباط بين الماركر والكيوتى إل يمكن أن تختلف من عائلة لعائلة، لذلك نجد ان إستخدام ماركر الارتباط غير المتزن LD لتحديد الكيوتى إل يتطلب معرفة وتحليل تأثير الكيوتى إل داخل العائلة وليس عبر العشائر كما فى F2 والخلط الرجعى Backcrosses. ومدى إستخدام LD داخل العائلة يكون كثيفا لذلك يكون تغطية الجينوم كله من خلال عدد محدود من الماركرز ولكن الماركرز المهمة ممكن تكون على مسافة من الكيوتى إل، مما يؤدى إلى وضوح ضعيف للخريطة. ويمكن تحديد ماركر الارتباط المتزن LE Markers على مستوى الجينوم كاملا مستخدما عائلات أنصاف الأشقة فى وجود خريطة ماركر غير مكثفة (مسافات تتراوح 15-20 cM) وأهم الأمثلة لذلك هو الإنتفاع بماركر

الارتباط المترن مع عائلات أنصاف اشقة ابوية كبيرة العدد والتي تنتج من استخدام التلقيح الصناعى.

تحديد الكيوتى إل باستخدام ماركر الارتباط غير المترن فى العشائر المتباعدة :

هناك إستراتيجيتان لإيجاد ماركرز إرتباط غير مترن متسع للعشيرة Population Wide LD مع الكيوتى إل وهما:

- ١- تقدير للماركرز والتي فى أو قريبة من الجينات التي يعتقد إنها لها علاقة بالصفة المرغوبة Candidate Genes.
- ٢- مسح وراثى Genome Scan باستخدام خريطة ماركر مكثفة High Density بوجود ما ركر لكل 2-5 cM.

ونجاح أى من الاتجاهين يعتمد على مدى إمتداد ماركر الارتباط غير المترن فى العشيرة. فمثلا الدراسات فى عشائر الإنسان وجدت ان LD ماركر الارتباط غير المترن يمتد لمدى اقل من 1 cM. لذلك يجب توافر عدد من الماركرز للحصول على تغطية كافية من الماركر فى عشائر الإنسان حتى نتمكن من تحديد للكيوتى إل مبنيا على متسع للعشيرة لماركر الارتباط غير المترن Population Wide LD. ورغم أن وجود LD ماركر الارتباط غير المترن فى قطعان الحيوانات له ميزة فى تحديد الكيوتى إل ولكن يعتبر عيبا لتحديد الطفرات المسببة لهذه الكيوتى إل. ومع وجود إمتداد كبير لماركر إرتباط غير مترن والذي يكون على مسافة من الطفرة المسببة يمكن أن يظهر مصاحبة مع للقيمة المظهرية.

وفى وجود اتجاه الجين المرشح Candidate gene approach يمكن الانتفاع من المعلومات للأجناس الأخرى والغنية بالمعلومات الجينومية (مثل الإنسان والفسثران) وكذلك تأثير الطفرات فى الأجناس الأخرى والتي سبق ان حدد لها مناطق الكيوتى إل واو المعرفة للأساس الفسيولوجى للصفات لتحديد الجينات والتي يعتقد أنها تلعب دورا فى فسيولوجيا الصفة. وبعد تحديد الخريطة الوراثية وتحديد البلومورفيزم داخل الجين نجد ان المصاحبة بين الجينوتيب للجين المرشح Candidate gene والمظهر يمكن تقديرها. والتقدم فى تكنولوجيا الجينوم ساعد على عمل التتابع Sequencing القاعدى للجينوم بأكمله كما فى الدواجن والماشية وساعد التتابع أيضا على تحديد عدد كبير من المواقع فى الجينوم والتي تحتوى على نيكلو تيدات فردية SNPs أى تحديد مواقع قواعد ال DNA التي تظهر اختلافات، فمثلا فى الدواجن أمكن تحديد أكثر من 2.8 مليون نيكلو تيدة فردية

بمقارنة التتابع فى دجاج الغابة الأحمر مع ثلاثة انواع محلية وبالتالي أمكن تقليل تكاليف الجينوتيبينج وتحديد الكيوتى إلى مستخدما ماركر ارتباط غير متزن مع خريطة ماركر مكثفة.

عدد من الاتجاهات تم وصفها للانتفاع بمعلومات الماركرز والتي يمكن تميزها إلى تأثير الكيوتى إلى وتأثير الماركر الوراثة. الكيوتى إلى يمكن وضعها فى النموذج الإحصائي كعامل مجدد Fixed او كعامل عشوائي Random، بينما المعلومات تأتي من نوع الماركر هي: الماركرز المباشرة Direct Markers، ماركرز الارتباط المتزن LE Markers، ماركرز الارتباط غير المتزن LD Markers.

تقدير تأثير الكيوتى إلى فى التقييم الوراثة :

فى حالة اعتبار الكيوتى إلى كعامل محدد نجد ان طريقة الانحدار على احتمالات الجينوتيب تستخدم فى التقييم الوراثة للأخذ فى الاعتبار تأثير بلومورفيزم الكيوتى إلى. واعتبار الكيوتى إلى كعامل محدد فى النموذج الإحصائي يكون حساسا خصوصا لو كان هناك عدد قليل من الاليلات معروف انها تتعزل وحيث تبدو أهمية السيادة والتفوق. ويقترض أن التأثير متساوي عبر العشيرة. وفى حالة وجود عدد من الكيوتى إلى يمكن تحليل الجينوتيب المختلفة منفردة مع اعتبار السيادة والتفوق. ولأغراض الانتخاب وفى حالة استعمال كيوتى إلى محددة ومع اعتبارها تجمعية يمكن إضافتها للتأثير البولوجينى عند حساب القيمة التربوية كما هو الحال لتأثير النوع فى التقييم الوراثة عبر الأجيال. وتبدو ميزة اعتبار الكيوتى إلى المحددة هو قلة عدد التأثيرات المحددة المطلوب حسابها.

واعتبار كيوتى إلى كعامل عشوائي مع إعتبار أن كل فرد له كيوتى إلى مختلفة التأثير. والتباين المشترك يبنى هنا على التطابق بالنسب Identical by Descent بدلا من استخدام مصفوفة العلاقات الفردية Numerator Relationships. وبمعرفة كاملة للإنعزال الوراثة يمكن حساب كل الاليلات المؤسسة Founder Alleles كعوامل مختلفة عن بعضها. ولا يفترض النموذج الإحصائي أى إفتراضات حول عد الاليلات للكيوتى إلى وبالتالي تأخذ فى اعتبارها اتوماتيكيا Accomdate لتداخل للكيوتى إلى مع الأساس الوراثة Genetic Background كما فى حالة العائلات او الخطوط لذلك لا يكون اعتبار لفرض التجانس لتأثير للكيوتى إلى Homogeneity of QTL effects. ويحسب النموذج الخليط Mixed Model تأثير للكيوتى إلى وآخر للتأثير البولوجينى والقيمة التربوية هى مجموع التأثيرين.

التقييم الوراثة باستخدام الماركر المباشر :

عند توافق الجينوتيب للوظيفة الحقيقية للطفرة لا حاجة عندئذ لاستخدام معلومات النسب للتنبأ بتأثير الجينوتيب كما هو الحال عند قياس جينوتيب الكيوتي إلى مباشرة. وعند وجود عدد قليل من الاليلات يكون عدد الجينوتيب محدوداً، لذلك نجد أن في التقييم الوراثة من الأمثل اعتبار تأثير الجينوتيب كعامل محدد fixed effect مع فرض الفروق الجينوتيب هي نفسها في العائلات المختلفة وكذلك القطعان المختلفة. وهذا الفرض ممكن أن يكون معقولاً في حالة نموذج الكيوتي إلى ذات الاليلين في وجود عشيرة متجانسة نسبياً. والبديل لذلك هو استخدام نموذج يشتمل على كيوتي إلى عشوائية بتأثيرات مختلفة لكل أساس اليلي مختلف Different Founder Alleles أو حتى وجود تداخلات بين الكيوتي إلى والبيئة QTL by Environment Interactions وفي كل من النموذجين يمكن حساب الاحتمال للجينوتيب Genotype Probabilities للأفراد الذين ليس لهم جينوتيب Individual with missing genotype.

التقييم الوراثة باستخدام ماركر الارتباط المتزن LE markers :

عندما يكون الاختبار الوراثة ليس للجين نفسه ولكن للماركر المرتبط، عندئذ تصبح الاحتمالات للكيوتي إلى المحسوبة من الماركر جينوتيب Marker genotypes والتي سوف تتأثر بمعدل حدوث التوافق الوراثة بين الماركر والكيوتي إلى وبمدى امتداد ماركر الارتباط غير المتزن LD بين الكيوتي إلى والماركر عبر العشيرة. لو تواجد ماركر الارتباط غير المتزن بين الكيوتي إلى وماركر مرتبط معها داخل العائلة يجب تحديد تأثير الماركر أو على الأقل تحديد طور الارتباط Marker-QTL Linkage Phase للعائلات كل على حدة. ويتطلب هذا تحديد جينوتيب الماركر وسجلات المظهر لكل فرد من العائلة. وإذا كان الارتباط Linkage بين الماركر والكيوتي إلى واسعاً Loose، يجب أن تكون سجلات المظهر من أقارب قريبة للأفراد المرشحة للانتخاب، لأن المصاحبة سوف تنتهي بسرعة من خلال التوافق الوراثة. وبالنسبة لبيانات النسل يكون تحديد تأثيرات الماركر - الكيوتي إلى أو أطوار الارتباط بناءً على اختبارات إحصائية بسيطة، لتقارن بين متوسط مظهر النسل التي تتوارث اليل مختلف للماركر من أب مشترك.

التقييم الوراثي باستخدام ماركر الارتباط غير متزن LD markers :

توجهت معظم المشاريع إلى استخدام الخريطة الدقيقة Fine Map وتعنى الخريطة الدقيقة توافر ماركر او ماركر هابلوتيب فى حالة إتزان غير عشوائى مع الكيوتى إل لو لم تكن طفرة مباشرة، وغالبا ما تكون الهابلوتيب لاليات الماركر القريبة للكيوتى إل فى ارتباط غير متزن مع اليات الكيوتى إل، وتعطى وإختبارات الماركر معلومات عن جينوتيب الكيوتى إل عبر العائلات. وإستعمال معلومات الجينوتيب من هابلوتيبس الماركر فى التقييم الوراثى يكون من خلال وضع الكيوتى إل كعامل عشوائى فى النموذج الإحصائى. ومهمة ماركر الارتباط غير المتزن هو المساعدة فى حساب مصفوفة التباين والتباين المشترك بحساب احتمالات التطابق بالنسب IBD Probabilities أى يمكنها استخدام معلومات بناءً على وجود ماركر الارتباط غير المتزن. وهناك أحد الاقتراحات بإستعمال الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن معا لحساب IBD-Based co-variances (LDL analysis) وبذلك نجد انه مع وجود ماركرز مكثفة، نجد أن المعلومات عن الارتباط، وكذلك معلومات النسب تصبح اقل قيمة. وعندما يصبح موقع الكيوتى إل محددا تماما نجد ان معلومات الماركرز القريبة تستخدم بدرجة اكثر لحساب احتمالات LD-based IBD وهنا يمكن تحديد مصفوفة التباين والتباين المشترك بين تأثيرات الكيوتى إل العشوائية بدون الحاجة إلى معرفة تركيب العائلة أو معلومات النسب. ولذلك نجد ان معلومات ماركر الارتباط غير المتزن أدت إلى مصفوفة مكثفة لعلاقات الجاميطات Dense GRM.

ويمكن للنموذج الاحصائى ان يشتمل على مايسمى متسع العشيرة وإرتباط غير متزن LD Population-Wide وذلك باستخدام الماركر جينوتيب أو الهابلوتيب كعامل ذو تأثير محدد Fixed effect فى النموذج الحيوانى Animal Model وبالتالي يكون هناك إفتراضات اقل عن تاريخ العشيرة. ولكن هناك عيب وهو ان التقديرات المحسوبة تكون ليست BLUP أى ليست افضل تقدير متبأ غير متحيز أى أن انحدارها فى إتجاه المتوسط يعتمد على كمية المعلومات المتوافرة لتقدير التأثيرات المطلوبة، وهذا مهم لو أن بعض الجينوتيب أو تأثيرات الهابلوتيب لا يمكن تقديرها لقلة عدد الأفراد التى لها الجينوتيب أو الهابلوتيب.

إتجاه الجينوم الكامل للتقييم الوراثي بإستخدام ماركر إرتباط غير متزن ذو كثافة عالية:

Whole Genome Approach for Genetic Evaluation using High Density LD-Markers

كلما تم إكتشاف كيوٲى إل، يتم أحلال تأثير البولوجينك بتأثير متعدد للكيوتى إل وتوارث كل واحدة يكون متبوعا بأقواس من الماركرز Marker Brackets أو معلومات من الهابلوتيبس. وهناك مفهوم يسمى العلاقة الاليلية الكلية Total allelic relationship حيث يتم حساب التباين المشترك بين أى فردين من إيلى التطابق بالنسب، وبالتالي يكون الاستجابة للانتخاب أعلى عنه فى الانتخاب المبني على معلومات النسب لأنها تأخذ فى اعتبارها التباين الذى يعزى إلى العلاقات الوراثية التجمعية بين الأفراد. ويأخذ هذا الاتجاه فى الاعتبار التداخل بين وداخل المواقع الوراثية، وكذلك طبيعة التوارث لكل كيوٲى إل فى الجينوم مما يؤدى إلى تقدير أدق للتقييم الوراثى. وكلما أصبح الجينوتيبينج متوافرا وبسر قليل، كلما تم تحديد الكيوٲى إل على طول الجينوم. وهنا يمكن إعتبال ماركر الهابلوتيبس كعامل مستقل عشوائى على مسافة 1 cM من الجينوم. والتباين المصاحب لكل هابلوتيب يمكن إفتراضه متساوى لكل منطقة كروموسومية أو تقديره من البيانات باستخدام طريقة البزيان Bayesian Procedure وتصبح القيمة التربوية المقدرة للأفراد هى مجموع القيمة التربوية المقدرة لكل الهابلوتيبس التى تحتويها.

إستراتيجيات الانتخاب داخل النوع بمعلومية الكيوٲى إل والبولوجينات:

- ١- الانتخاب بناءً على معلومية الكيوٲى إل فقط.
والانتخاب بناءً على الكيوٲى إل أو معلومات الماركر فقط يتجاهل المعلومات المتاحة عن الجينات الأخرى (البولوجينات) والتى تؤثر فى الصفة ويتوقع ان يعطى اقل استجابة للانتخاب إلا إذا إشتملت (الكيوتى إل- القيمة التربوية) - الجينات التى تؤثر فى الصفة. وهذه الاستراتيجية لا تتطلب معلومات مظهرية لازمة لتقدير تأثير الماركرز. وهى مهمة عندما يكون تقدير القيمة المظهرية من الصعوبة تسجيلها أو مكلفا (صفات الأمراض وصفات اللحم).
- ٢- الانتخاب باستخدام الانتخاب الترادفى Tandem Selection ويتبع الانتخاب بناءً على الكيوٲى إل الانتخاب بناءً على القيمة التربوية المحسوبة من تأثير البولوجينات.

٣- الانتخاب بناءً على مجموع الكيوتى إلى والقيمة التربوية البولوجينية. ومن المتوقع أن الانتخاب بناءً على مجموع الكيوتى إلى والقيمة التربوية البولوجينية يؤدي إلى أقصى استجابة إنتخابية Response to Selection على المدى الصغير، ولكن يمكن أن لا يؤدي إلى أقصى إستجابة على المدى البعيد للنقص في الاستجابة البولوجينية، والأدلة الانتخابية للكيوتى إلى والقيمة التربوية البولوجينية يمكن حسابها لتصل إلى أقصى استجابة للانتخاب على المدى البعيد.



الباب الثامن

الانتخاب بناء على ثلاثة أنواع من المراكز

الباب الثامن

الانتخاب بناءً على ثلاثة أنواع من الماركرز

Selection on three types of Markers

تطبيق الوراثة الجزئية لغرض التحسين الوراثي يعتمد على معرفة الجينوتيب للأفراد لمواقع وراثية محددة وهناك ثلاثة أنواع لمواقع بلومورفوزمية يمكن تمييزها كما سبق ذكره وهي:

١- مواقع الماركرز المباشرة Single- Gene. Traits.

٢- مواقع ماركرز الارتباط غير المتزن LD Markers.

٣- مواقع ماركرز الارتباط المتزن LE Markers.

صفات الجينات الفردية والصفات الكمية :

استخدمت الماركرز لتحديد مواقع، أو مناطق كروموسومية، والتي تؤثر على صفات الجين الواحد، والصفات الكمية، وصفات الجين الواحد Single gene traits وتشمل العيوب الوراثية والصفات الشكلية.

ولغرض تحديد الكيوتى إلى وتطبيقاتها يمكن تقسيم الصفات الكمية إلى:

أ - صفات تسجل روتينيا Routinely recorded traits مثل صفة إنتاج الحليب وإنتاج البيض.

ب- صفات يصعب تسجيلها وتشمل الماكول الغذائى Feed Intake، صفات المنتج Product Quality.

ج- صفات غير مسجلة Unrecorded Traits ومنها صفات المقاومة المرضية.

ويمكن تقسيم الصفات السابقة إلى:

١- صفات تظهر فى الجنس.

٢- صفات تظهر فى جنس واحد.

٣- صفات تسجل متأخرة فى حياة الحيوان.

والمقدرة على تحديد الكيوتى إلى يعتمد على توافر معلومات مظهرية وتتناقص هذه المقدرة فى الترتيب ا، ب، ج وداخل كل قسم تتناقص فى الترتيب من 1, 2, 3.

وحيث أن المسح الوراثي يتطلب بيانات مظهرية أكثر من التحليل الجيني المرشح Candidate gene analysis (وهو الجين الذي يعرف أن تأثيره له علاقة بالنظام البيولوجي والذي يمكن أن يؤثر في الصفة تحت الدراسة وهذه المعلومات يمكن أن تأتي من الأجناس الأخرى مثل الإنسان والفئران). ويستخدم المسح الوراثي Genome Scan لتحديد الكيوتى إلى للصفات في القسم ١ بينما يستخدم التحليل الجيني لتحديد كيوتى إلى للصفات غير المسجلة روتينيا في القسمين ب، ج.

وتختلف الماركرز الثلاثة عن بعضها ليس فقط في طريقة تحديدها ولكن تختلف أيضا في تطبيقاتها في برامج الانتخاب، حيث أن الماركرز المباشرة وماركرز الارتباط غير المتزن تسمح بالانتخاب للجينوتيب عبر العشيرة لوجود مصاحبة بين الجينوتيب والقيمة المظهرية. بينما ماركرز الارتباط المتزن يسمح بأطوار ارتباط بين الماركرز والكيوتى إلى مختلفة من عائلة لعائلة. أي أن ماركر الارتباط المتزن LE هو ماركر خاص بالعائلة Family Specific ومعلومات العائلة يجب معرفتها.

والإنتخاب بناءً على الثلاثة أنواع من الماركرز يمكن تسميته:

- ١- الجين المساعد للإنتخاب (Gene Assisted -Selection (GAS.
- ٢- ماركر الارتباط غير المتزن المساعدة للإنتخاب Linkage Disequilibrium Marker- Assisted Selection (LDMAS)
- ٣- ماركر الارتباط المتزن المساعدة للإنتخاب Linkage Equilibrium Marker-Assisted Selection (LEMAS)

الانتفاع بالاختبارات الوراثية :

أول الاكتشافات للماركرز وجد في عام 1960م في إختبار الهالوثين وهو إختبار طبيعى للجين المسمى RYR حيث ان الطفرة المتحثة عند موقع الجين تتسبب في الحساسية لمرض Malignant Hyperthermia، والذي يظهره التعرض للغاز المخدر هالوثين، أو التعرض للإجهاد Stress والطفرة هي مصاحبة لمحتوى اللحم الطرى في الخنازير والذي زاد في التكرار نتيجة الانتخاب المستمر للصفة والجين الذي يظهر الصفة يسمى RYR1، وحدد الجين كجين موضعى Positional Candidate Gene، والذي يعمل على تشفير Encodes مستقبلات الرايونودين Ryanodine receptor والذي يعمل بدوره على تنظيم إفراز أيونات الكالسيوم Ca في هيكل العضلات، وبالتتابع Sequencing ل RYR1 cDNA من الأصل

الطبيعي Homozygous normal والأصيل المتحى Homozygous Mutant أظهرت طفرة فردية (R614C) Single missense mutation في المتحى الأصيل. هناك أنواع من ماشية اللحم، ومنها ماشية البلجيان الزرقاء Belgian Blue والشاروليه Charolais and Piedmontese، والبيدمونتيس تظهر نوعاً من التضخم في العضلات يسمى العضلات المزدوجة Double Muscling وهذا يرجع لوجود طفرة متحىة عند الموقع mh على الكروموسوم رقم 2 Myostatin. علماً بأن جين الميوسستاتين هو الجين المرشح Candidate Gene لمظهر الصفة، وأن الماشية التي لها هذا التضخم العضلي لها التركيب الأصيل mh/mh. وكذلك استخدام اختبارات الأليزا لمجموعات الدم كماركر فسيولوجي لارتباط غير متزن Physiological LD Marker للانتخاب للمقاومة المرضية في الدواجن. وبالرغم من وجود عدد كبير من التقارير لتحديد الماركرز، وجد أن معظم التجارب استخدمت الخلط بين الأنواع أو الخلط بين الخطوط. وأن هذه الدراسات حددت كيو تي إل والتي تختلف في التكرار بين الأنواع لا يمكن بعد ذلك استخدامها مباشرة للانتخاب داخل الأنواع، ولكن يمكن أن تؤدي إلى تحديد ماركرز ارتباط غير متزن LD Markers - لكيوتي إل والتي تتعزل داخل الأنواع مستخدماً الجينات المرشحة موضعياً Positional Candidate Gene Approach. (وهو الجين المرشح والذي في منطقة من الجينوم والتي حددت بواسطة المسح الوراثي والتي يبدو أنها تحتوي كيو تي إل). على سبيل المثال تحديد طفرات للجين RN والتي تعرف بإسم PRAKAG3 والتي وجد أنها تتعزل في الخطوط التجارية في الخنازير باستخدام الجين المرشح موضعياً Positional Candidate Gene Approach لمنطقة كيو تي إل وتم تحديدها بواسطة الخلط بين خطين تجاريين. واستخدام تجارب الخلط يشرح الاستخدام الوفير لكل من الماركر المباشر أو ماركر الارتباط غير المتزن في الخنازير والدواجن وماشية اللحم. والاتجاه البديل هو استخدام تحليل الكيو تي إل من خلط الأنواع Breed-Cross QTL Analysis مع استخدام تحليل الكيو تي إل جين الارتباط المتزن QTL LE داخل الخطوط التجارية في تحديد المنطقة وبالتالي يمكن تحديد ماركر الإتران العشوائي المستخدم في الانتخاب. أما في ماشية اللبن فيستخدم اتجاه آخر حيث يجري مسح وراثي على طول الجينوم باستخدام عائلات كبيرة من أنصاف الأشقة المتاحة في الصناعة (من التلقيح الصناعي) باستخدام نظام الجودة أو نظام الحفيدة وهذا أدى إلى توافر واستعمال ماركر الارتباط المتزن لعديد من مناطق الكيو تي إل.

برنامج الماركر المساعد لإدخال الجينات (MAI) Marker Assisted Introgression :

إدخال الأليل المرغوب للجين المستهدف Target gene من النوع المانح Donor إلى النوع المستقبل Recipient يمكن تحقيقه بواسطة التلقيح الرجعي المتكرر للاب المستقبل يتبعه جيل أو أكثر من التلقيح الداخلي Intercrossing والغرض من التلقيح الرجعي لعدة أجيال هو إنتاج أفراد تحمل نسخة واحدة من الأليل الكيوتي إلى النوع المانح، ولكن تكون متشابهة للنوع المستقبل لباقي مواقع الجينوم. والغرض من مرحلة التلقيح الداخلي هو تثبيت الأليل الكيوتي إلى من فرد النوع المانح. وتساعد معلومات الماركر في تفعيل Effectiveness مرحلة التلقيح الرجعي لإدخال الجين وذلك: بتحديد الأفراد التي تحمل الجين المستهدف Target gene أو ما يسمى بالانتخاب البعدي Foreground selection (الانتخاب بعد معرفة الجينوتيب). ويمكن تفعيل Effectiveness مرحلة التلقيح الداخلي من خلال الانتخاب البعدي Foreground Selection على الجين المستهدف. وإذا لا يمكن تحديد الجينوتيب مباشرة للجين المستهدف يمكن تحديد الأفراد التي تحمله بناءً على الماركرز التي تحتوي الكيوتي إلى Flank QTL على مسافات 10cM < لوجود ماركر الارتباط غير المتزن في الأفراد الخليطة. والماركر لابد ان يشتمل على أليلات خاصة بالنوع Breed-specific alleles حتى يمكن تحديد أصل الخطوط الوراثية. ولإدخال عدد من الجينات المستهدفة يستخدم النظام الهرمي أثناء طور التلقيح الرجعي لتقليل عدد الأفراد المطلوبة. وللاختيار البعدي تستخدم الماركرز المنتشرة على طول الجينوم وعلى مسافات 20 cM < وبذلك تكون معظم الجينات التي تؤثر على الصفة على بعد 10cM < من الماركر.

ويمكن الجمع بين الانتخاب البعدي Foreground Selection والانتخاب القبلي (الانتخاب بناءً على معلومات النسب والنسل مثلاً) Background Selection. ويمكن الانتخاب بناءً على قطعة حول الجين المستهدف في النوع المانح ولكن تكون في النوع المستقبل لباقي الجينوم. وسوف يؤدي الانتخاب البعدي إلى الانتخاب لكلاً من الموقع المستهدف والمواقع المرتبطة لهذا الموقع والتي بعضها يمكن ان يكون له تأثير غير مفضل على مظهر الصفة. ويجب تقليل هذا التأثير غير المرغوب أو ما يسمى Linkage drag around target locus. وقد وجد انه يجب توافر عشيرة كبيرة الحجم للحصول على أفراد خلية لكل الكيوتي إلى في التلقيح الرجعي.

وحيث أن قطعان الحيوانات تتميز بطول مدى الجيل Generation Interval ومعدل تناسلي منخفض وتكلفة رعاية مرتفعة، لذلك نجد أن هذا البرنامج يصلح للجينات ذات التأثير الكبير فمثلاً تم إدخال جين البرولا Booroola Gene(FecB) لأنواع أغنام اللبن باستخدام ماركر الارتباط غير المتزن LD Marker لقطعان الانتخاب. وإدخال اليل الهالوثين الطبيعي Halothane إلى خط البيتران Pietrain line والذي له تكرار مرتفع من اليل الهالوثين الموجب وتم الانتخاب باستخدام ماركر غير متزن LD ومرتبطة بالموقع RYR وتم استخدام الانتخاب أيضاً لجينوم دجاج اللحم Broiler عند إدخال جين الرقبة العارية Naked-Neck Gene من القطعان المحلية المنخفضة في وزن الجسم إلى خطوط دجاج اللحم التجارية.

برنامج الماركر المساعد للانتخاب Marker Assisted Selection :

إن الغرض الأساسي من استخدام الماركرز هو زيادة معدل التحسين الوراثي بالانتخاب داخل النوع وهذا يتطلب تتبع الماركر داخل النوع - كما ذكر سابقاً - أن الماركر المباشر وماركر الارتباط غير المتزن يسمح بالانتخاب عبر العشائر. وسياتي شرح مفصل لهذا النوع من الماركر في الباب الثالث عشر.

والجدول الآتي يبين أنواع الماركرز المختلفة المستخدمة في التربية التجارية

الماركرز المستخدمة في التربية التجارية للأجناس المختلفة حيث D = ماشية اللبن، B = ماشية اللحم، C = الدواجن، P = الخنازير، S = الأغنام.

قسم الصفة	الماركر المباشر	ماركر الارتباط غير المتزن	الماركر الارتباط المتزن
العيوب الخلقية	BLAD (D)		
	DUMPS(D)		
	CVM(D)		
	MAPLE SYURP URINE(D,B)		
	RYR (P)	RYR(P)	
المظهر	CKIT(P)		POOLED(B)
	MCIR/MSHR (P, B, D)		
	MGF(B)		

قسم الصفة	الماركر المباشر	ماركر الارتباط غير المتزن	الماركر الارتباط المتزن
صفات الحليب	k- Casein (D)		
	β -Lactoglobulin(D)		
	PMO3 (D)		
صفات اللحم	R YR(P)	R YR(p)	
	RN/PRKAG3(P)	RN/PRKAG3(p)	
		A-FABP/FABP3(P)	
		A-FABP/FABP3(P)	
		CAST(P,B)	
	>15 PICmarq(P)		
		THYR(B)	
		Leptin(B)	
الطعام المأكول	MC4R(P)		
الامراض	Prp(S)	B blood group (C)	
	F18 (P)	K88(P)	
التناسل	Booroola(S)	Booroola(S)	
	Inverdale(S)	ESR(P)	
	Hanna (S)	PRLR(P)	
		RBP4(P)	
النمو	MC4R(P)	CAST(P)	QTL (P)
	IGF-2(P)	IGF-2(P)	
	Myostatin(B)		QTL(B)
	Callipyge(S)	Carwell(S)	
محصول الحليب	DGATD	RHL(D)	QTL(D)
	GRH(D)		
	k- Casein(D)		

والمطلوبات لإدخال بيانات الماركر في برامج التحسين الوراثي تكون أكثر في ماركر الارتباط المتزن LE Marker عنها في كل من ماركر الارتباط غير المتزن

LD Marker والماركر المباشر حيث أن استخدام ماركر الارتباط المتزن في العشائر المتباعدة Outbred population يتطلب مظهر وجينوتيب الأفراد المرشحة للانتخاب مع أقاربها لأن تقدير التأثير يكون داخل العائلات وزيادة أفراد العائلة يعتمد على معدل التوافق الوراثية بين الماركرز والكيوتى إل. ومن الممكن أن تكون البيانات اللازمة أقل وأن تكون من أقارب أكثر بعداً لو كان معدل التوافق الوراثية أكبر. والماركر المباشر والماركر غير المتزن يتطلب جينوتيب الأفراد المرشحة للانتخاب فقط، لأن تقدير تأثير الجينوتيب يمكن أن يعرف من معلومات سابقة أو يعرف من عينة من الأفراد المعروف لها الجينوتيب والقيمة المظهرية. ويمكن استخدام البيانات من الماركر المتزن في تقدير قيم BLUP وذلك باعتبار كل كيوتى إل عامل عشوائى وإعتبار عدد من الكيوتى إل داخل العائلات. وعند استخدام بيانات الماركر غير المتزن والماركر المباشر يمكن استخدام طريقة الهابلوتيب إذا لم يتم معرفة الجينوتيب لكل الحيوانات وعموماً المتطلبات الحسابية Computational requirements أقل في ماركر الارتباط غير المتزن والماركر المباشر عنها في ماركر الارتباط المتزن. ويتطلب ماركر الارتباط غير المتزن معرفة وتحليل الماركرز هابلوتيب ومعرفة طور الارتباط الوراثى بين الماركرز والكيوتى إل. ويمكن استخدام بيانات ماركر الارتباط غير المتزن أو الماركر المباشر كعوامل محددة Fixed genotype أو تأثير الهابلوتيب. ومع أنه لم يتم حتى الآن إجراء جينوتيب لكل الحيوانات وهذا الوضع العملى يجب استخدام بيانات الماركر مع مصفوفة احتمالات الجينوتيب Genotype probabilities والتي يمكن حسابها من سجلات النسب وبيانات الماركرز كذلك. وعلى كل الأحوال متطلبات التقييم الوراثى للماركر غير المتزن تتطلب تحديد الماركر هابلوتيب، وتحليله ووجود طور ارتباط بين الماركر والكيوتى إل.

ويمكن تقدير القيمة التربوية بدرجة دقة عالية باستخدام طريقة البزيان للنموذج الخليط Bayesian Mixed Model analysis للماركر هابلوتيب بدرجة كثافة عالية من معلومات الجينوتيب والقيم المظهرية لعدد محدود من الأفراد. وتكاليف الجينوتيبينج هى العامل المحدد حالياً لتطبيق كثافة عالية من الجينوتيبينج ولكن هذه التكلفة يتوقع انخفاضها في المستقبل.

الباب التاسع
إستخدام القيمة الدلالية
لحساب تكرار الاليلات وتباينها

الباب التاسع

إستخدام القيمة الدلالية Indicator variable

لحساب تكرار الاليلات وتباينها

لو كان هناك اليلين لموقع لفرد حيث ترمز $1, 2 = z$ لرقم الاليل ويرمز n $I = 1, 2, 3$ لرقم الفرد

وتصبح القيمة الدلالية X_{ij}

$X_{ij} = 1$ لو ان الاليل z فى الفرد i من النوع A

$X_{ij} = 0$ لو ان الاليل z فى الفرد i من نوع اخر

ويكون تكرار الاليل A فى العينة هو

$$P_A = 1/2n \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^2 x_{ij}$$

القيمة المتوقعة (Expected value)

$$E(X_{ij}) = 1 * \text{pr}(X_{ij} = 1) + 0 * \text{pr}(X_{ij} = 0)$$

$$= 1 * P_A + 0 * (1 - P_A) = P_A$$

$$P_A = P_A$$

حساب التباين :

من المفترض ان حاصل ضرب $X_{ij} X_{ij'}$ ($j \neq j'$) سوف لا تكون صفرا فقط عندما تكون كلا من الاليلات $j \neq j'$ فى الفرد i من النوع A حيث X_{ij}^2 مثل X_{ij} نفسها.

$$E(X_{ij}^2) = P_A$$

$$E(X_{ij} X_{ij'}) = P_{AA}$$

$$E(X_{ij} X_{ij'}) = E(X_{ij})E(X_{ij'}) = P_A^2$$

$$E(P_A) = (1/4n^2)$$

$$(E \sum_i \sum_j x_{ij}^2 + E \sum_i \sum_j \sum_{j' \neq j} x_{ij} x_{ij'} + \sum_i \sum_{i' \neq i} \sum_j \sum_{j'} x_{ij} x_{i'j'})$$

$$E(P_A) = (1/4n^2) (2n P_A + 2n P_{AA} + 4n(n-1) P_A^2)$$

$$E(P_A) = P_A^2 + 1/2n (P_A + P_{AA} - 2 P_A^2)$$

$$\text{Var}(P_A) = (1/2n) (P_A + P_{AA} - 2 P_A^2)$$

In Hardy Weinberg Equilibrium

$$P_{AA} = P_A^2$$

$$P_{Aa} = 2P_A P_a$$

$$P_{aa} = P_a^2$$

وعموما نجد ان :

$$P_{AA} = P_A^2 + P_A P_a F$$

$$P_{Aa} = 2P_A P_a (1 - F)$$

$$P_{aa} = P_a^2 + P_A P_a F$$

$$\text{Var}(P_A^2) = (1/2n) P_A ((1 - P_A) (1 + F))$$

حيث F هي معامل التربية الداخلية - لو كانت $F=0$ تطبق معادلات (هاردي واينبرج)
مثال:

في اختبار للدم كان عدد الجينوتيب لمجموعة الدم بين الأب والأم هو

Genotype	father	mother	Total
MM	26	27	53
MN	44	51	95
NN	23	15	38
total	93	93	186

ويصبح تكرار التراكيب الوراثية $P_{MM} = 53/186 = .2849$ و $P_M = 20/372$
= 05403

والتباين $\text{Var}(P_M) = [.5403 + .2849 - 2(.5403)^2] / 372 = .0006488$

الحدبة العظمى (Maximum Likelihood (ML)

لو فرضنا ان هناك التراكيب الوراثية التالية:

A_1A_1 A_1A_2 A_2A_2 A_1A_3 A_2A_3 A_3A_3 ولهم التكرارات الآتية
 n_1 n_2 n_3 n_4 n_5 n_6
حيث :

$$n = n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5 + n_6$$

وان هناك اثنين من الثوابت المستقلة P_1 و P_2 والمطلوب تقديرهم بإستخدام طريقة الحدبة العظمى وذلك فى الخطوات التالية:

- ١- تحديد التوزيع الذى ستحسب منه معادلة الحدبة العظمى وهو فى المثال التالى:
التوزيع متعدد الأوجه Multinomial Distribution.
- ٢- كتابة معادلة الحدبة العظمى هى:

$$L(p_1 p_2) \propto (p_1^2)^{n_1} (2 p_1 p_2)^{n_2} (p_2^2)^{n_3} [2 p_1 (1 - p_1 - p_2)]^{n_4} \times \\ [2 p_2 (1 - p_1 - p_2)]^{n_5} [(1 - p_1 - p_2)^2]^{n_6}$$

- ٣- حساب التقديرين (S1, S2) two scores بأخذ اللوغارتم لمعادلة الحدبة العظمى ثم تفاضلها بالنسبة للثابت الاول والثابت الثانى:

$$S_1 = \frac{\partial \ln L}{\partial p_1} = \frac{2n_1 + n_2 + n_4}{p_1} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{1 - p_1 - p_2}$$

$$S_2 = \frac{\partial \ln L}{\partial p_2} = \frac{2n_3 + n_2 + n_5}{p_1} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{1 - p_1 - p_2}$$

- ١- مساواة المعادلتين S1 , S2 بالصفر حتى يمكن حساب الثابتين:

$$p_1 = \tilde{p}_1 = \frac{2n_1 + n_2 + n_4}{2n}$$

$$p_2 = \tilde{p}_2 = \frac{2n_3 + n_2 + n_5}{2n}$$

- ٢- حساب تفاضل التقديرين S1 , S2

$$\frac{\partial s_1}{\partial p_1} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_1^2} = -\frac{2n_1 + n_2 + n_4}{p_1^2} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$

$$\frac{\partial s_2}{\partial p_2} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_2^2} = -\frac{2n_3 + n_2 + n_5}{p_2^2} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$

$$\frac{\partial s_1}{\partial p_2} = \frac{\partial s_2}{\partial p_1} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_1 \partial p_2} = -\frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$

- ٦- تقدير مصفوفة المعلومات المتوقعة Expected Information matrix وذلك بتقدير القيمة المتوقعة للتقديرات Expected values of Scores.

$$E(I) = 2n \begin{pmatrix} \frac{1}{p_1} + \frac{1}{(1-p_1-p_2)} & \frac{1}{(1-p_1-p_2)} \\ \frac{1}{(1-p_1-p_2)} & \frac{1}{p_2} + \frac{1}{(1-p_1-p_2)} \end{pmatrix}$$

ومقلوب هذه المصفوفة =

$$E[(I)]^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{p_1(1-p_1)}{2n} & -\frac{p_1 p_2}{2n} \\ -\frac{p_1 p_2}{2n} & \frac{p_2(1-p_2)}{2n} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \text{var}(\hat{p}_1) & \text{cov}(\hat{p}_1, \hat{p}_2) \\ \text{cov}(\hat{p}_1, \hat{p}_2) & \text{var}(\hat{p}_2) \end{pmatrix}$$

عناصر مقلوب مصفوفة المعلومات المتوقعة هو التباين والتباين المشترك لتوزيع الأوجه المتعددة Multinomial variances and covariances وبالنسبة للعينات الكبيرة الحجم تعطى الحدبة العظمى تقديرا غير متحيز للتوابت المقدرة ويعطى مقلوب مصفوفة المعلومات تقديرا للتباين والتباين المشترك وتتوزع تقديرات الحدبة العظمى للتأثير الواحد

$$\text{MLE } \hat{\phi} \sim \text{Approximately } N(0, \{E(I(\phi))\}^{-1})$$

وفى العينات الكبيرة ، ولعديد من التوابت تتوزع تقديرات الحدبة العظمى توزيعا طبيعيا نهائيا للمتغيرات المتعددة asymptotically multivariate normal.

$$P = \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \end{pmatrix} \text{ لو كان } -\gamma$$

وتصبح قيمة $p' =$ اى قيمة التوابت بعد الدورة الاولى من التدوير iteration حيث p هى قيمة التوابت الاولى initial values.

$p' = p + I^{-1}S$ ويستمر التدوير حتى تستقر التوابت المقدرة iteration .continue until convergence

لو طبقنا ذلك على اليلات الدم نجد ان معادلة الحدبة العظمى هى:

$$L \propto [p_A(2-p_A-2p_B)]^{n_A} [p_B(2-2p_A-p_B)]^{n_B} [2p_A p_B]^{n_{AB}} \times [(1-p_A-p_B)^2]^{n_D}$$

وان التقديرين هما:

$$S_A = \frac{n_A + n_{AB}}{p_A} - \frac{n_A}{2 - p_A - 2p_B} - \frac{2n_B}{2 - 2p_A - p_B} - \frac{2n_O}{1 - p_A - p_B}$$

$$S_B = \frac{n_B + n_{AB}}{p_B} - \frac{2n_A}{2 - p_A - 2p_B} - \frac{n_B}{2 - 2p_A - p_B} - \frac{2n_O}{1 - p_A - p_B}$$

ويصبح التفاضل بالنسبة للثابتين هو :

$$-\frac{\partial S_A}{\partial p_A} = \frac{n_A + n_{AB}}{p_A^2} + \frac{n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{4n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - p_A - p_B)^2}$$

$$-\frac{\partial S_B}{\partial p_B} = \frac{n_B + n_{AB}}{p_B^2} + \frac{4n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - p_A - p_B)^2}$$

$$-\frac{\partial S_A}{\partial p_B} = -\frac{\partial S_B}{\partial p_A} = + \frac{2n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{2n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - p_A - p_B)^2}$$

وهكذا تكون مصفوفة المعلومات المتوقعة وقيم P_B, P_A

$$p = \begin{pmatrix} p_A \\ p_B \end{pmatrix}, I = \begin{pmatrix} -\frac{\partial S_A}{\partial p_A} & -\frac{\partial S_A}{\partial p_B} \\ -\frac{\partial S_B}{\partial p_A} & -\frac{\partial S_B}{\partial p_B} \end{pmatrix}$$

وتكون قيمة الايلين في الدورة الاولى من التدوير هي $P = P + I^{-1} S$ ويستمر التدوير حتى يحدث ثباتاً لقيم الثوابت.

مثال: مجموعات الدم

عشيرة والتي فيها جينات مجموعات الدم O, A and B بنسب 1, 3 and 6. ولو حدث التزاوج عشوائياً عندئذ يصبح تكرار الأفراد لمجموعات الدم الأربعة هو:

$$\text{Group O: } (.6)^2 = .36$$

$$\text{Group AB} \quad 2 \cdot .3 \cdot .1 = .06$$

$$\text{Group A: Homozygous AA} \quad .3 \cdot .3 = .09$$

$$\text{Heterozygous AO} \quad 2 \cdot .3 \cdot .6 = .36$$

	Total Group A	=.45
Group B	Homozygous BB	.1 *.1=.01
	Heterozygous OB	2*.1*.6=.12
	Total Group A	=.13
	Total	= 1.00

وفى عينة من الأفراد لمجموعات الدم كان عددهم هو

$$n_A=95, n_B=21, n_{AB} \text{ and } n_O=70 \text{ نجد ان قيم}$$

$$1-P_A-P_B = .6 \text{ و } 2-2P_A-P_B = 13 \text{ و } 2-P_A-2P_B=1.5$$

وتصبح قيمة $P = P + \Gamma^{-1}S$

$$p' = \begin{pmatrix} .3 \\ .1 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 783.591 & 498.184 \\ 498.184 & 3903.514 \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} 34.4 \\ 26.153 \end{pmatrix}$$

ويمكن استخدام الحدة العظمى فى تقدير الثوابت لموضع الكيوتى إلى وتأثيرها فى المنحنى الطبيعى. لو فرضنا ان القيمة المظهرية للفرد الذى له كيوتى إلى جينوتيب بمتوسط μ_Q . وتباين σ^2 تصبح الحدة العظمى للقيمة المظهرية Z معطى الجينوتيب للماركر هو M_j :

$$L(z / M_j) = \sum_{k=1}^N Q(Z, \mu_Q, \sigma^2) pr(Q_k / M_j)$$

حيث ان $Q(Z, \mu_Q, \sigma^2)$ هى الكثافة للمنحنى الطبيعى و N عدد الجينوتيبين المفترض.

μ_Q, σ^2 متوسط وتباين الجينوتيب، $pr(Q_k / M_j)$ هى دالة فى الخريطة الوراثية (موضع الكيوتى إلى بالنسبة للماركرز الملاحظة) وتأثير الكيوتى إلى يكون من خلال المتوسط μ_Q ، وتباين المنحنى الطبيعى.

مثال:

فى نظام ال F_2 وماركر أحادى وكيوتى إلى أحادية مرتبطة بالماركر. وان القيم المظهرية تتوزع طبيعياً حول جينوتيب الكيوتى إلى. وتصبح الحدة العظمى كالآتى:

$$l(z/MM) = (1-c^2)\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2) + 2c(1-c)\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2)$$

$$+ c^2\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2)$$

$$l(z/Mm) = c(1-c)\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2) + [(1-c)^2 + c^2]\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2)$$

$$+ c(1-c)\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2)$$

$$l(z/mm) = c^2\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2) + 2c(1-c)\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2)$$

$$+ (1-c)^2\varphi(z, \mu_{QQ}, \sigma^2)$$

ويصبح الحدبة العظمى الكلية لعدد من n أفراد F_2 هو حاصل ضرب الثلاث قيم للحدبة العظمى $l(z) = \prod_{i=1}^n l(z_i/M_i)$ وبالتالي نجد ان معادلة الحدبة العظمى هي دالة في خمسة ثوابت ، موضع الكيوتى إل (c)، والثلاث متوسطات للكيوتى إل $(\mu_{QQ}, \mu_{Qq}, \mu_{qq})$ وتباين σ^2 .

الباب العاشر
إستخدام النماذج الخلية
لتقدير تأثير الكيوتي إل

الباب العاشر

إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل

خطوات استخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل:

وهي طريقة أفضل تتبأ خطي غير متحيز Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) بمعنى أنها تعطي أفضل تتبأ خطي لتأثير العوامل العشوائية Random Effects وافضل قيم غير متحيزة للعوامل المحددة Fixed Effects كما هو موضح في النموذج التالي:

بفرض أن هناك متجه Vector Y للقيم المظهرية Phenotypic Values لصفة ما فإن النموذج الخليط Mixed Model هو:

$$Y = XB + ZU + ZQq + e$$

حيث أن :

B = متجه التأثيرات المحددة

ومتجه التأثيرات البولوجينية العشوائية U = ، وتباينها $var(u) = A V_u$

ومتجه تأثيرات الكيوتي إل العشوائية q = ، وتباينها $var(q) = V_q G$

ومتجه التأثيرات العشوائية البيئية e = ، وتباينها $var(e) = V_e$

Z, Q مصفوفات المصاحبة لقيم B, U, q والتي تربط التأثيرات المحددة والبولوجينية والبيئية بالسجلات المظهرية Phenotypic Records للصفة وبفرض معرفة التباين V_u, V_e, V_q ربما من تجربة سابقة لمعرفة موقع QTL علي الخريطة الوراثية. لذلك يحتوي كل صف من المصفوفة Q على رقمين 11 بينما باقى أرقام الصف أو عناصره هي:

والحقيقة أنه لا يمكن ملاحظة أليلات الكيوتي إل مباشرة ولكن يستدل عليها إحصائيا Inferred من معلومات الماركر. وبفرض تمييز الأليلات الأفراد الأساسية Founding Individuals، لذلك عدد الأليلات في العشيرة القاعدية هو ضعف عدد الأفراد القاعدية Base Animals، وبالتالي ففي الأجيال اللاحقة يكون الاستدلال Inference على الماركر هابلوتيب Haplotype لتتبع إنتقال الأليلات الكيوتي إل حيث أن المصفوفة Q تحدد إنتقال الأليلات الكيوتي إل للنسل ولكن لا تحدد أى أليلات الكيوتي إل التي انتقلت لهذا النسل. ويرجع ذلك إلى وجود التوافق

الوراثية بين اليلات الماركرز التي تحيط بالكيوتي إل أو أن الماركر هابلوتيس غير معلوماتية Uninformative. وتكوين أليات جديدة للكيوتي إل وهذه الليات مرتبطة بالنسل من خلال المصفوفة Q وتأثير الليات الجديدة مرتبطة بأليات الآباء بفرض أن القيمة المتوقعة لتأثير الليات الجديدة للكيوتي إل هي متوسط تأثير الليات الآباء للكيوتي إل والمثال التالي يوضح ذلك:

مثال بفرض وجود فردين في العشيرة القاعدية، وكان تأثير الليات الكيوتي ال هو (q_1, q_2) , (q_3, q_4) . بفرض تزاوج الفردين وانتجا الفرد الثالث وهذا الفرد يحمل الاليل q_1 من أحد الآباء ولكن حدوث العبور بين الماركرز التي تحيط بالكيوتي ال وتكوين التوافق يجعل انتقال الاليل الثاني من الأب الآخر غير مؤكد، وعليه يتكون اليل آخر جديد يسمى q_5 عنده تصبح معادلات النموذج الخليط كالتالي:

$$\text{Var}(q_5) = V_q, \quad E(q_5) = .5(q_3 + q_4)$$

$$\text{Cov}(q_5, q_4) = \text{Cov}(.5q_4, q_4) = .5V_q, \quad \text{Cov}(q_5, q_3) = \text{Cov}(.5q_3, q_3) = .5V_q$$

$$Qq = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q_1 \\ q_2 \\ q_3 \\ q_4 \\ q_5 \end{bmatrix}$$

$$G = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & .5 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & .5 \\ 0 & 0 & .5 & .5 & 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'ZQ \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha & Z'ZQ \\ Q'Z'X & Q'Z'Z & Q'Z'ZQ + G^{-1}\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{U} \\ \hat{q} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'Y \\ X'Y \\ Q'Z'Y \end{bmatrix}$$

فى هذا المثال وبفرض أن μ تمثل التأثيرات المحدودة وأن المصفوفة G (مصفوفة التطابق بالنسب) لها تركيب المصفوفة A (مصفوفة العلاقات الفردية) وأنه بمعرفة قيمة كلا من $\lambda = V_e/V_q$ $\alpha = V_e/V_u$ يمكن إيجاد حل لكل من التأثيرات المحددة B والتأثيرات العشوائية البولوجينية U وتأثيرات الكيوتي إل العشوائية q

$$\begin{bmatrix} 2+\lambda & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 1+\lambda & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1+3/2\lambda & 1+1/2\lambda & -\lambda \\ 0 & 0 & 1+1/2\lambda & 1+3/2\lambda & -\lambda \\ 1 & 0 & -1 & -\lambda & 1+2\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q1 \\ q2 \\ q3 \\ q4 \\ q5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y1+y5 \\ y2 \\ y3 \\ y4 \\ y5 \end{bmatrix}$$

ومزايا طريقة النماذج الخلطة Mixed Model advantages هي:

- ١- تأخذ فى اعتبارها العوامل المحددة Fixed effects والعوامل العشوائية Random effects. وأنها تعامل تأثير الكيوتي إل المرتبطة بالماركز كعامل عشوائى.
- ٢- ممتاز بالمرونة ولا تؤدي إلى تقدير غير متحيز للقيمة التربوية نتيجة معاملة العوامل العشوائية كعوامل محددة كما هو الحال فى طريقة أقل المربعات Least Squares.
- ٣- يمكن أن تتعامل مع عدد كبير من القطعان وهى طريقة مفيدة أيضا فى حالات وجود تركيب فرضى للنسب Arbitrary Pedigree Structure ويمكن ان تأخذ فى اعتبارها وجود التزاوج غير العشوائى أو وجود قرابات أو وجود انتخاب وكذلك وجود كميات مختلفة من المعلومات لللايلات المختلفة للكيوتي إل.
- ٤- النماذج الخلطة لا تؤدي الى تضخم القيمة التقويمية لافضل الحيوانات التي تحدث فى طريقة الانحدار المتعدد وحيث أن قيمة G^{-1} ليست نسبة من المصفوفة $Z'Z$ مما يؤدي الى أن BLUP لا تؤدي الى ان عوامل الانحدار تنحدر بطريقة متساوية وبالتالي يكون ترتيب الحيوانات مختلفا فى النماذج الخلطة عنه فى طريقة الانحدار.

عيوب طريقة النموذج الخلطة Mixed Model Drawback:

- ١- لا تأخذ فى اعتباره معلومات عن موضع الكيوتي إل.

- ٢- إهمال حدوث العبور المزدوج بين الماركرز، ولو أنها لن تتأثر ببرامج الماركر المساعدة للانتخاب خصوصا لو كانت الماركرز قريبة من بعضها.
- ٣- يتطلب حسابات كثيرة خصوصا كلما زاد عدد الكيوتي ال وكذلك زيادة عدد الأفراد حيث أن لكل حيوان يحتوى النموذج علي معادلة لتأثير البولوجنيك ومعادلتين لكل كيوتي إل معلمة QTL Marked.
- ٤- هناك فرض أن التباين متساوي لكل مواقع الكيوتي إل وهذا غير واقعي.
- ٥- أن مصفوفة العلاقات الفردية Numerator Relationship Matrix المستخدمة تفترض ضمنا أن التركيب الوراثي والذي يؤثر علي الصفة معروفا وهذا غير حقيقي.

مصفوفة التطابق بالنسب المصفوفة G :

مصفوفة تطابق الجاميطات بالنسب (IBD) Identical by Descent هي مصفوفة تحتوى على احتمالات بين اثنين من الجاميطات الأبوية والامومية للاليات المتوارثة للأفراد فيما بينهم وكذلك بين جاميطات الأفراد الآخرين. بمعنى انه عند موقع معين على الكروموسوم تكون الأفراد لها نسخة من نفس الاليل لجد مشترك وفي هذه الحالة تسمى الاليات في الأفراد (IBD) Identical by Descent ويسمى هذا الاحتمال... إحتمال التطابق بالنسب Probability of Identical by Descent وكذلك عندما يكون اليلين في الفرد نفسه مشتقة من اليل نفسه الجد يقال لهما انهما متطابقين بالنسب ويكون إحتمال هذا التطابق بالنسب هو معامل التربية الداخلية للفرد.

والمثال التالي يوضح طريقة حساب مصفوفة التطابق بالنسب IBD

حساب وبناء المصفوفة $G \& A$ ومقلوبهما	بناء المصفوفة $G \& A$ جينوتيب M	الام	الطلوقة	الحيوان
القيمة المظهرية	بناء المصفوفة			
80	12	-	-	1
120	34	-	-	2
90	13	2	1	3
110	23	2	1	4
115	33	4	3	5

عند غياب أى من الأبوين يرمز له -

الجينوتيب عند موقع الماركر هو توليفة من الاليلات 1 الى 4
الماركر الأول في الحيوان 2 & 1 مرتبط بالليل الأبوي للكيوتي إل.
الحيوان رقم 4 & 3 اخوة أشقة كاملة.

لبناء مصفوفة الجاميطات G. بفرض أن حدوث توافق وراثية $r = 1$ (عدم
حدوث توافق) ($1-r = 0.9$) عندئذ لو كان هناك كيوتي إل واحدة وباستخدام معلومات
عن الماركر M المرتبط مع الكيوتي إل يمكن حسابها كالاتي:

١- العلاقة بين جاميطات الفرد ونفسه هي واحد صحيح أى أن العلاقة بين
الجاميطة الأبوية ونفسها هي 1 وكذلك العلاقة بين الجاميطة الأموية ونفسها
(أى الأم) هي 1. العلاقة بين جاميطة الأب وجاميطة الأم = صفرا في الفرد
1 & 2
إى ان :

$$P(V_1^p \equiv V_1^p) = P(V_1^p) = P(V_1^p) = 1 \&$$

$$P(V_1^p \neq V_1^m) \text{ or } (V_1^p) \neq P(V_1^p) = 0$$

٢- للفرد رقم 3

$$P(V_3^p \equiv V_1^p) = 1 - r = 1 - 0.1 = 0.9$$

$$P(V_3^p \equiv V_1^m) = r = 0.1$$

٣- حيث أن الحيوان رقم 3 والحيوان رقم 4 اشقة كاملة وتوارثوا ماركر أليل
نفسه من الأم ولكنهم توارثوا اليلات الماركر المختلفة من الأب. لذلك
لتوارث نفس السيل الأب للكيوتي إل، تحدث توافق وراثية لتكوين
الجاميطات المنتقلة لأحد الأبناء بمعدل r ، وعدم حدوث توافق وراثية
المنتقلة للابن الآخر بمعدل $1-r$. ويصبح الاحتمال الكلي هو $r = 0.18$ $(1-r) * 2$
اليل الكيوتي إل المنتقلة عن طريق الأم للحيوان 4 & 3 تكون متطابقة عند...
عدم حدوث توافق.. أو حدوث توافق في الجاميطان المنتجة. وقد يحدث
ذلك كله باحتمال $r * r = 0.82$ $(1-r) * (1-r)$. ويلاحظ ان العلاقة بين جاميطات
الاشقة الكاملة ($= 0.5$) في حالة عدم وجود معلومات عن موقع ماركر مرتبط.

٤- الحيوان رقم 5 ابناً للاشقة الكاملة 4 & 3 وفي حالة عدم توافر معلومات عن
الماركر، يكون احتمال التطابق بالنسب للاليلات الأبوية والأموية عند موقع

الكيوتي ال = 1/4 بينما الحيوان رقم 5 توارث المراكز اليل 3 من كلا من الابوين والذي يؤدي الي علاقة 6666. ويمكن حسابه كالاتي:

$$P(V_5^P \equiv V_5^m) = .6561 + .0081 + .0009 + .0009 = .6666$$

حيث

$$أ - P(V_5^P \equiv V_2^P \text{ and } V_5^m \equiv V_2^m) = (.9)^4 = .6561$$

وان الآباء ورثت الاليل 3 من الام 2 عندئذ نجد ان V_2^P و V_5^P IBD \Rightarrow وذلك عند عدم حدوث توافيق وراثية وعند انتقال الجينات من الأب 2 الى 3 والى 4 ثم الانتقال من 4 & 3 الى 5.

ب- تصبح الاليلات IBD متطابقة بالنسب عند حدوث توافيق وراثية للجاميطات المنتقلة بواسطة الافراد 2 الى 3 وكذلك 4. ولكن عدم حدوث توافيق وراثية بعد ذلك اي $P(V_5^P \equiv V_2^m \text{ and } V_5^m \equiv V_2^m) = .1^2 * .9^2 = .0018$.

ج- ويصبح V_5^P متطابقا بالنسب IBD مع V_5^m وذلك لانتقال الاليلات بواسطة الطلوق 1 ولكن هذا الاحتمال صغير لان اليلات المراكز انتقلت للحيوان 4 & 3 اي يمكن حسابه كالاتي:

$$P(V_5^P \equiv V_1^P \text{ and } V_5^m \equiv V_1^m) = .9 * .1 * .1 * .1 = .0009$$

$$P(V_5^P \equiv V_1^m \text{ and } V_5^m \equiv V_1^P) = .1 * .9 * .1 * .1 = .0009$$

وفى هذا الحالة التوافيق الوراثية مطلوبة لإحدى الجاميطات التي تنتقل بواسطة الطلوق 1 وكلا من الجاميطتين المنتقلة بواسطة الحيوان 3 والحيوان 4. وتؤدي الاحتمالات الأربعة إلى:

$$P(V_5^P \equiv V_5^m) = .6561 + .0081 + .0009 + .0009 = .6666$$

الجدول التالي هو مصفوفة التطابق بالنسب لواحدة من الكيوتي ال فى حالة ارتباطها بمراكز واحد (عناصر المصفوفة فوق الوتر) وفى حالة عدم ارتباطها باى مراكز (عناصر المصفوفة اسفل الوتر) وذلك باستخدام بيانات النسب وبمعرفة معدل التوافيق الوراثية ($r = .1$).

الفرد	1		2		3		4		5	
نوع الجاميطة	P	m	P	m	P	m	P	m	P	m
P	1	0	0	0	0.9	0	0.1	0	0.09	0.01
m	0	1	0	0	0.1	0	0.9	0	0.01	0.09
P	0	0	1	0	0	0.9	0	0.9	0.81	0.81
m	0	0	0	1	0	0.1	0	0.1	0.09	0.09
P	0.5	0.5	0	0	1	0	0.18	0	0.1	0.02
m	0	0	0.5	0.5	0	1	0	0.28	0.9	0.74
P	0.5	0.5	0	0	0.5	0	1	0	0.02	0.1
m	0	0	0.5	0.5	0	0.5	0	1	0.74	0.9
P	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25	1	0.67
m	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	1

٥- العلاقة بين الجاميطة m للفرد 3 والجاميطة m للفرد 4 هي: $3 * (1-r) + r = .28 = .09 * 3 + .01$

٦- العلاقة بين الجاميطة m للفرد 3 والجاميطة P للفرد ٥ هي $.74 = .01 + (.9)^3$ $=(1-r)^3 + r^2 =$

الاستفادة من الانتخاب بمساعدة الماركر باستخدام النموذج الوراثي متعدد الجينوم Benifits from Marker-Assisted Selection Under Additive Polygenic Model

اعتمد التقييم الوراثي سابقا على المعلومات المظهرية ومعلومات النسب وتقدير القيمة التربوية باستخدام مصفوفة العلاقات بين الأفراد A_p Relationship Matrix مستخدما معلومات النسب فقط وإيجاد A_p واستخدام ما يسمى أفضل تنبأ خطي غير متحيز قياسي $Standard BLUP_s$. بينما تستخدم في وجود معلومات عن الماركرز، معلومات النسب ومعلومات الماركرز. ويتم حساب القيمة التربوية باستخدام أفضل تنبأ خطي غير متحيز في وجود الماركرز $BLUP_m$. كما تم استخدام معلومات النسب ومعلومات الماركرز وتقدير مصفوفة A_{pm} . وهي مصفوفة التطابق بالنسب IBD . وعناصر هذه المصفوفة هو العدد المتوقع من الأليلات التي يحملها الفرد z والذي يتطابق بالنسب مع عينة عشوائية من الأليلات من الفرد i ، مشروطا على Conditional معلومات الماركرز ومعلومات النسب، وتحسب مصفوفة التطابق

بالنسب على مواقع مختلفة متساوية من بعضها على كل كروموسوم ثم يحسب متوسطها لكل المواقع وكل الكروموسومات لتقدير المصفوفة A_{pm} .

حساب معامل التربية الداخلية :

يتم حساب متوسط معامل التربية الداخلية من معلومات النسب F_p وذلك من عناصر مصفوفة العلاقات بين الأفراد من A_p بينما معامل التربية الداخلية عند الكيو تي ال F_q عند كل جيل يمكن حسابه من معرفة تكرار التراكيب الوراثية الاصلية مصححة للتراكيب الاصلية في العشيرة القاعدية ويمكن حساب ذلك من المعادلة

$$F_q(t) = \left[\sum_{i=1}^q Ho_i(t) - \sum_{i=1}^q \sum_{j=1}^n p_{ij}^2 \right] / \left[q - \sum_{i=1}^q \sum_{j=1}^n p_{ij}^2 \right]$$

حيث $q =$ عدد الكيو تي ال، $n =$ عدد الاليات لكل كيو تي ال، p_{ij} التكرار الاولى للاليل ز الكيو تي ال i . Ho_i هو تكرار التركيب الاصيل للكيو تي ال i . ومعامل التربية الداخلية الحقيقي والذي يتم حسابه عند مواقع الكيو تي ال F_q يتناقص كلما زاد طول الجينوم. ويعطى استخدام النسب تقديرا جيدا لمعامل التربية الداخلية ولكن فقط للمواقع غير المرتبطة وراثيا ويعطى معامل التربية الداخلية المقدر من معلومات النسب F_p تقديرا متحيزا لاسفل لقيمة التربية الداخلية الحقيقية F_q ، وهذا التحيز مهم عند استخدام $BLUP_m$ لكل أحجام الجينوم المختلفة خصوصا الجينوم الصغير الحجم.

ومعاملات التربية الداخلية التي حسبت من معلومات النسب لاستخدامها في حساب احسن تنبأ خطي غير متحيز القياس $BLUP_s$ كانت اعلى من مثيلاتها التي حسبت لاحسن تنبأ خطي غير متحيز في وجود الماركرز $BLUP_m$. بالإضافة مع $BLUP_m$ تتبع معامل التربية الداخلية F_p في اتجاه محدد. لكل جينوم مختلف الحجم وان هذا الاتجاه عكس الذي يتبع معامل التربية الداخلية في وجود الماركرز F_q . وكلما صغر حجم الجينوم صغر قيمة F_q ، وكلما كبر حجم الجينوم اقتربت قيمة A_{pm} من قيمة A_p .

تأثير عدد المواقع على افضل تنبأ خطي غير متحيز في وجود الماركر $BLUP_m$:

عند حساب مصفوفة التطابق بالنسب A_{pm} يجب التوفيق بين عدد المواقع حيث يتم حساب مصفوفة التطابق بالنسب والوقت اللازم لحساب المصفوفة، وكلما

زاد عدد المواقع، كلما زادت الدقة في تقدير العلاقات الوراثية. ولكن زيادة عدد المواقع بدرجة كبيرة ليس عملياً لذلك يجب أن يكون هناك توفيق بين زيادة عدد المواقع والوقت اللازم لحساب مصفوفة التطابق بالنسب. وعند استخدام أفضل تنبأ خطي غير متحيز، وحساب مصفوفة التطابق بالنسب لعدد مختلف من المواقع للكروموسوم (X) نجد أن زيادة عدد المواقع من 10 إلى 20 للكروموسوم أعطت زيادة بسيطة في معدل التحسين الوراثي وزيادة عدد المواقع من 20 إلى 40 أعطت زيادة بسيطة جداً لذلك نجد أن حساب مصفوفة التطابق باستخدام 10 مواقع على الكروموسوم مع استخدام أفضل تنبأ خطي غير متحيز باستخدام الماركرز $BLUP_m$ أعطت زيادة جيدة في معدل التحسين الوراثي.

تأثير طول الجينوم على الفائدة في أفضل تنبأ خطي غير متحيز في وجود الماركرز $BLUP_m$:

لتقدير مصفوفة التطابق بالنسب IBD بدرجة دقة عالية لابد وأن يكون عدد الماركرز المستخدمة في تقدير $BLUP_m$ كبيراً (40 ماركرز لكل كروموسوم). وكلما صغر حجم الجينوم كلما زادت الفائدة من استخدام الماركرز.

والاستفادة من استخدام معلومات الماركرز كانت معدومة في الأجيال الأولى من الانتخاب. ولكن تزداد الاستفادة بتقدم الأجيال. وزاد معدل الاستجابة للانتخاب عند تقدير $BLUP_m$ باستخدام المصفوفة A_{pm} بمعدل 5, 7, 9, 11% أكثر منه باستخدام $BLUP_s$ ، وذلك للجينوم بعدد من الكروموسومات 5, 10, 20, 30 كروموسوماً على الترتيب. وتزداد الدقة في تقدير القيمة التربوية باستخدام الماركرز $BLUP_m$ عنه باستخدام الطريقة القياسية $BLUP_s$ عبر الأجيال. وكلما زاد حجم الجينوم (زيادة عدد الكروموسومات) كلما اقتربت الدقة في تقدير القيمة التربوية عند استخدام $BLUP_m$ من الدقة نفسها باستخدام $BLUP_s$.

الزيادة في دقة تقدير القيمة التربوية، وكذلك الزيادة في دقة تقدير معدل الاستجابة للانتخاب، التي لوحظت في جينوم معين (عدد معين من الكروموسومات) مع $BLUP_m$ مقارنة بما لوحظ مع $BLUP_s$ كان مصحوباً بزيادة بسيطة في معامل التربية الداخلية المحسوب عند موقع الكيوتي إل F_q . وكان معامل التربية الداخلية المحسوب عند مواقع الماركرز F_p كان مشابهاً لمعامل التربية الداخلية المحسوب عند موقع الكيوتي إل F_q .

تأثير عدد الماركرز على الاستفادة من افضل تنبأ خطى غير متحيز $BLUP_m$:

كلما زاد عدد الماركرز كلما زاد معدل الاستفادة من استخدام المصفوفة A_{pm} عنه في استخدام المصفوفة A_p ، خصوصا كلما كان ذلك قى الأجيال المتأخرة من الانتخاب. وكانت الزيادة باستخدام $BLUP_m$ 2, 4 % عندما كان عدد الماركرز 1, 2 ماركر ولكن وصلت الزيادة الى 11% عندما كان عدد الماركرز 10 أو أكثر وكان هناك زيادة قليلة عندما كان عدد الماركرز أكثر من 10 أى ماركر واحد لكل 10cM. وهذا يعنى ان الخريطة الوراثية التي لها مسافات وراثية 10cM تكون ذات كثافة عالية Dense لتحقيق أكثر فائدة، والماركرز التي لها أيضا معلوماتية عالية (10 اليل لكل ماركر) . وفى حالة نقص المعلوماتية عن ذلك يجب زيادة كثافة الماركرز لتحقيق الزيادة نفسها فى التحسين الوراثي المتوقع.

طريقة بسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب باستخدام الماركرز المتعددة:

مصفوفة احتمال التطابق بالنسب بين جاميطات الفرد i والتي تورثت من الأب X (A_i^x) والجاميطات من السلف J والتي تورثت من الأب Y (A_j^y) مشروطا Conditional on linked Marker Genotype على الماركر المرتبط نو الجينوتيب (M) هو

$$P(A_i^x \equiv A_j^y) = P(A_j^y = A_x^p / M) * PDQ(A_i^x \Leftarrow A_x^p / M) \\ + P(A_j^y \equiv A_x^m / M) * PDQ(A_i^x \Leftarrow A_x^m / M)$$

وبلاحظ أن الاحتمالين:

$$P(A_j^y \equiv A_x^p / M)$$

$$P(A_j^y \equiv A_x^m / M)$$

يمثلان احتمال التطابق بالنسب بين الجاميطه A_j^y وكلا من الجاميطه الابويه

A_x^p والجاميطه الامومية A_x^m للاب X . بينما :

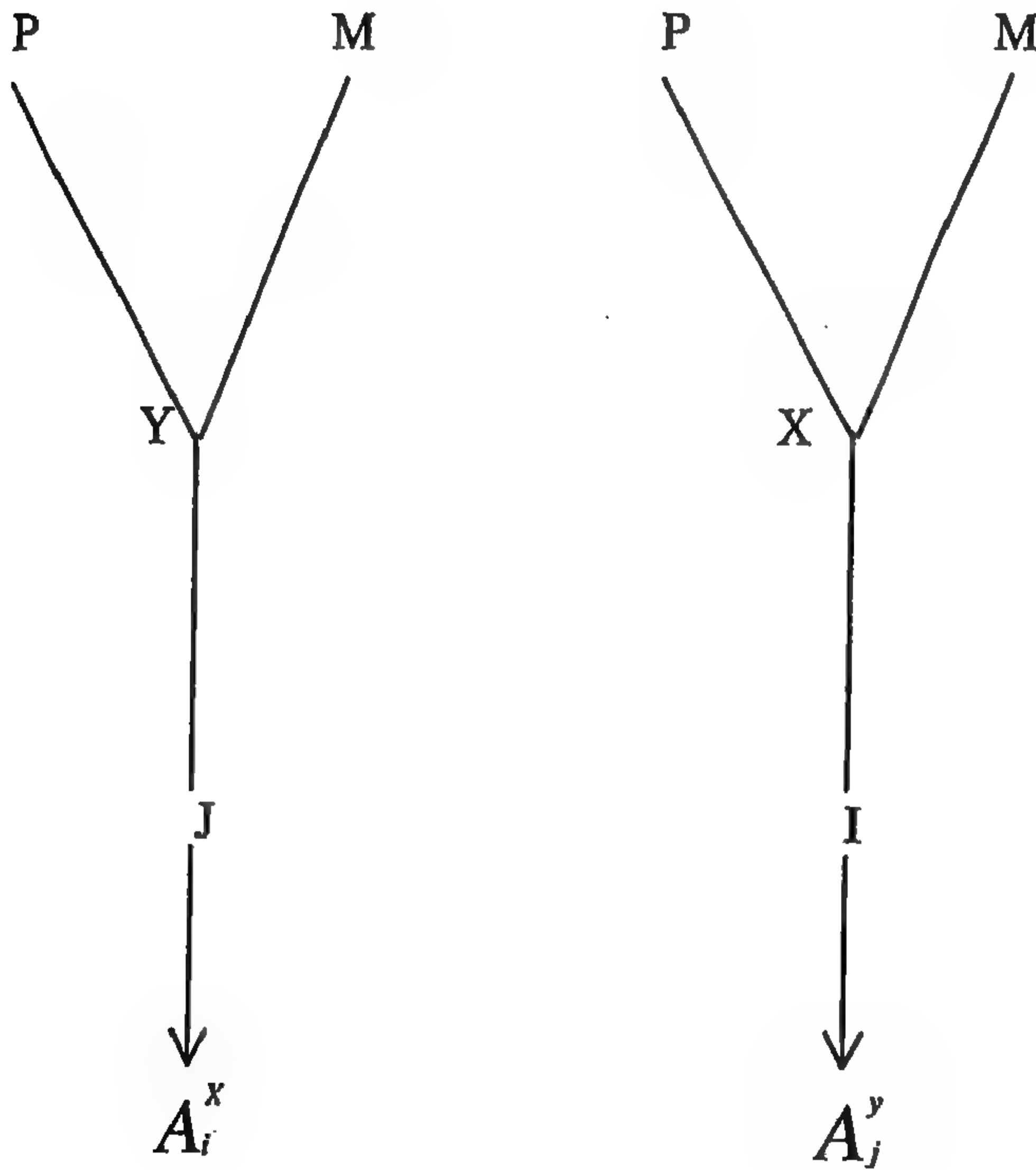
الاحتمالين :

$$PDQ(A_i^x \Leftarrow A_x^p / M)$$

$$PDQ(A_i^x \Leftarrow A_x^m / M)$$

يمثلان احتمال الجاميطه A_i^x للفرد i بشرط أن تكون مثل الجاميطاتان A_x^p أو A_x^m للأب X . وجاميطتا كل فرد يمثلان الآليات الأبوية، والأمومية المورثة. ولقد عرفنا أن احتمال الجاميطات المتطابقة بالنسب PDQ هو احتمال أن الجاميطه ولتكن (A_i^x) للفرد والتي ورثت من أحد الآباء (وليكن X) هي إما جاميطه أبوية Paternal A_x^p أو الجاميطه الامومية A_x^m .

وعندما يكون الاب غير مربى تربية داخلية Not Inbred نجد أن PDQ هي نفس IBD بين جاميطات الفرد وجاميطات أبويه. ويكون حساب مصفوفة احتمال التتابع بالنسب مشروطا على Conditional أقرب مراكز يتوارث من الأب تحت التساؤل.



الجدول (1): إحتمال الجاميطة (A_i^X) من النسل
 I تكون نفسها كجاميطة أبوية A_X^P أو جاميطة أمومية A_X^M معطاً أقرب
 ماركر معلوماتي تورث من الأب X

اصل الماركر M1	M2	$PDQ (A_i^X \Leftarrow A_X^P)$	$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^M)$
P	P	$(1-r_1)(1-r_2)/(1-r)$	$r_1r_2/(1-r)$
P	M	$(1-r_1)r_2/r$	$r_1(1-r_2)/r$
M	P	$r_1(1-r_2)/r$	$(1-r_1)r_2/r$
M	M	$r_1r_2/(1-r)$	$(1-r_1)(1-r_2)/(1-r)$
P	-	$(1-r_1)$	r_1
M	-	r_1	$(1-r_1)$
-	P	$(1-r_2)$	r_2

الجدول (2): إحتمال التطابق بالنسب بين جاميطات الأشقة والتي تورثت من
 أب مشترك غير المربي تربية داخلية.

حالة IBD عند الماركرز	IBD
1	1
1	0
0	1
0	0
1	$-$
0	$-$

- = Uniformative Marker (Untyred Individ)

P = الفرد تورث الأليل من الأب

M = الفرد تورث الأليل من الأم

والمعادلات هي إحتمال التطابق بالنسب IBD مفترضا أن الأب الشائع غير
 مربى داخليا (IBD_n). ولو كان الأب مربى داخليا (الجاميطاتان لهذا الأب لهما
 إحتمال تطابق بالنسب لا يساوي الصفر). وإن إحتمال التطابق بالنسب الكلي
 لجاميطات الأشقة هو $F+(1-F)*IBD_n$ حيث F هي التطابق بالنسب بين جاميطات
 الأب. بينما IBD_n هي المعادلات في الجدول السابق. حيث r, r_2, r_1 هي معدل

التوافق بين الماركر الأول والكيوتي إل، ومعدل التوافق بين الماركر الثاني والكيوتي إل وكذلك معدل التوافق بين الماركرز الأول والثاني علي التوالي.

بروتوكول استخدام الطريقة البسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب:

١- إيجاد طور الماركر هابلوتيب لكل الماركرز المحتملة عند وجود جينوتيب ماركر الفرد وابعاءه.

٢- حساب الـ IBD تتابعياً recursively مبتدئاً من الجدود القديمة وينتهي بأصغر النسل.

٣- عناصر الوتر لمصفوفة الـ IBD هي 1 دائماً اي أن الجاميطه متطابقة مع نفسها دائماً ١٠٠%.

٤- لو كان الفرد من العشيرة القاعدية base population يكون احتمال التطابق بالنسب بين جاميطاته والأفراد السابقة له (الجدود) صفراً.

٥- لو كان الفرد ليس من العشيرة القاعدية Not from base Population يحسب احتمال التطابق بالنسب لكل جاميطه (أبوية أو أمومية معطاً أقرب معلومات للماركر مع معرفة طور الهابلوتيب.

٦- تستخدم المعادلات السابقة لحساب احتمال التطابق بالنسب بين الجاميطات الأبوية وجاميطات الجدود السابقة حيث أن احتمال التطابق بالنسب مع أب الفرد تم حسبها فعلاً. تكرر الحسابات نفسها مع جاميطات الأم.

٧- لو كان الفرد هو حساب احتمال التطابق بالنسب بين أي جاميطات مشتقتان من أب مشترك (أي أن الأفراد هي أشقة) نستخدم المعادلة $F + (1-F) * IBD$ هي معادلة (Knott Haley 1997) مع الأخذ في الاعتبار لنسل الحيوانات القاعدية والتي لا يمكن فيها تقدير قيمة PDQ.

الباب الحادى عشر
النموذج المختلط للكيوتى إل

الباب الحادى عشر

النموذج المختلط للكيوتى إل

Mixture Model for QTL

عند وجود كيوتى إل لكل موقع ولكل فرد نجد ان عدد المعادلات فى النموذج الخليط Mixed Model والتي يشملها برنامج ال (م اس) MAS هو $2m+1$ حيث m هى عدد المواقع الوراثية Loci. مما يجعل من الصعوبة تطبيق النموذج الخليط للبيانات الكبيرة الحجم large data Set ومن المعروف ان التقييم فى برنامج ال (م اس) MAS يشمل تأثير الكيوتى إل وتأثير البولجينات وان تأثير الكيوتى إل يمكن الاستدلال عليه من الماركرز المرتبطة معها وان هذا الاستدلال Inference يكون نتيجة معرفة توزيع جينوتيب الكيوتى إل QTL Genotyping Distribution بدلا من معرفة تأثير محدد للكيوتى إل Fixed QTL Effect. لذلك نجد ان برنامج ال (م اس) MAS وتقدير تأثير الكيوتى إل هو تطبيق للنماذج الخطية Linear Models لبيانات لها توزيعات مختلطة ومن المعروف ان الاليات التى يحملها الفرد من الممكن ان تكون متطابقة او مختلفة خصوصا فى قطعان الحيوانات وللصفات ذات الأهمية الاقتصادية. وعند إعتبار الكيوتى إل للجدود والأبناء وللأفراد المؤسسة والأبناء وللأفراد المؤسسة Founder يصبح الأمر هو تقدير نموذج مختلط محدد finite mixture model ويلاحظ ان معادلات هندرسون والتي إستخدمت فى تربية الحيوان على نطاق واسع مصممة للنماذج الخليطة وليست للنماذج المختلطة والتي هى لبيانات خليطة من التوزيعات المختلفة وإمتداد النماذج الخليطة للنماذج المختلطة اصبح ضروريا لتحليل بيانات الكيوتى إل فى العشائر المركبة Complex Population لاستخدامها فى برنامج ال (م اس) MAS.

أهمية النموذج المختلط :

تحدد أهمية النموذج المختلط للكيوتى إل عند:

- ١- عدم معرفة عدد الاليات وتكراراتها فى العشائر القاعدية وهذا بالنسبة للكيوتى إل وكذلك الماركرز.
- ٢- عند وجود أب أصيل لموقع الماركر يصبح من الصعب تتبع اثر الاليل من زوجى كروموسومات الأب الأب الأصيل والتي تنتقل إلى النسل.

- ٣- ان يكون الأبويين خليطين لموقع الماركر نفسه أى يحمل الاليلات نفسها وبالتالي من الصعب تتبع اصل الاليلات الأبوية فى النسل الخليط.
- ٤- لا يمكن معرفة جينوتيب الكيوتى إل وبالتالي لا يمكن معرفة أي الأبويين خليط لصفة الكيوتى إل.
- ٥- عدم تحديد طور الارتباط بين الماركر والكيوتى إل.
- ٦- غياب بعض معلومات عن جينوتيب الماركر او يكون جينوتيب الماركر لعينة بسيطة من العشيرة.
- ٧- عند وجود أكثر من كيوتى إل نجد ان كل واحدة لها عدد مختلف من الاليلات ولهم تباين مختلف Hetergenious Variance، وقد يكون لهم توزيعات مختلفة كذلك.

مثال :

بفرض وجود كيوتى إل واحدة لها اليلات تجمعية التأثير وخطا يتوزع طبيعيا فى الجيل الثانى F2 وبفرض ان y_i القيمة المظهرية للصفة ولا نعرف بالضبط جينوتيب الكيوتى إل. وان هناك ثلاثة احتمالات لماركر الجينوتيب وإحتمال حدوثها. و معادلة الكثافة للمنحنى الطبيعي (Probability Density Function, PDF) كالآتي:

Individual	Phenotype	Genotype	P	PDF
١	y_i	A	.25	$(y_i; \mu_A, \sigma^2)$
2	y_i	B	.50	$(y_i; \mu_H, \sigma^2)$
3	y_i	B	.25	$(y_i; \mu_B, \sigma^2)$

كثافة $\phi(y; \mu, \sigma^2) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp(-(y - \mu)^2 / 2\sigma^2)$ هى معادلة الكثافة

للمنحنى الطبيعي (Probability Density Function, PDF) للمنحنى الطبيعي بمتوسط μ وتباين σ^2 ونجد ان

$$\mu_H = 1/2 (\mu_A + \mu_B)$$

اى ان متوسط الجينوتيب H هو 1/2 مجموع متوسطى الجينوتيب A.B حيث نفترض التأثير التجمعى للاليلات وبأخذ المجموع الموزون للمكونات الثلاثة يمكننا إيجاد معادلة الكثافة المختلطة كالآتي:

$$f_{mix}(y_i) = \frac{1}{4}\phi(y_i; \mu_A, \sigma^2) + \frac{1}{2}\phi(y_i; \frac{\mu_A + \mu_B}{2}, \sigma^2) + \frac{1}{4}\phi(y_i; \mu_B, \sigma^2)$$

وتصبح الحدبة العظمى المختلطة للملاحظات Y_1, Y_2, \dots, Y_n ، معا هو حاصل ضرب الحدبة العظمى للملاحظات الفردية اى:

$$L = \prod_{i=1}^n f_{mix}(y_i)$$

ويمكن الرمز للتوزيع الطبيعى للتراكيب الثلاثة A, H, B هي $A(\cdot)$, $H(\cdot)$, $B(\cdot)$ على التوالى.

كيف يمكن تقدير ثوابت النموذج الخليط ؟

يمكن تقدير ثوابت باستخدام طريقة الحدبة العظمى التى تعظم لوغاريثم الحدبة العظمى كالاتى:

- ١- إيجاد معادلة الحدبة العظمى للنموذج المختلط .
- ٢- إيجاد اللوغاريثم للحدبة العظمى للنموذج المختلط.
- ٣- تفاضل اللوغاريثم بالنسبة لثوابت النموذج المختلط ثم مساواتها بالصفر لحل هذه الثوابت.

$$0 = \frac{\partial}{\partial \theta} l = \frac{\partial}{\partial \theta} \log \left(\prod_{i=1}^n f_{mix}(y_i) \right) = \sum_{i=1}^n \frac{\partial}{\partial \theta} \log f_{mix}(y_i)$$

وتصبح قيمة

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial \theta} \log f_{mix}(y_i) &= \frac{1}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} [0.25\phi_A(y_i) + 0.5\phi_H(y_i) + 0.25\phi_B(y_i)] \\ &= \frac{0.25}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} \phi_A(y_i) + \frac{0.5}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} \phi_H(y_i) + \frac{0.25}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} \phi_B(y_i) \\ &= \frac{0.25\phi_A(y_i)}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} \log \phi_A(y_i) + \frac{0.5\phi_H(y_i)}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} \log \phi_H(y_i) + \frac{0.25\phi_B(y_i)}{f_{mix}(y_i)} \frac{\partial}{\partial \theta} \log \phi_B(y_i) \\ &= P(A/y_i) \frac{\partial}{\partial \theta} \log \phi_A(y_i) + P(H/y_i) \frac{\partial}{\partial \theta} \log \phi_H(y_i) + P(B/y_i) \frac{\partial}{\partial \theta} \log \phi_B(y_i) \end{aligned}$$

ويمكن التعرف عليها كمجموع الوزن للحدبة العظمى للتوزيع الطبيعى حيث أن الأوزان هى الاحتمالات الشرطية للجينوتيب معطى القيمة المظهرية الملاحظة $P(A/y)$, $P(H/y)$, $P(B/y)$ والتى تعتمد على قيم θ غير المعروفة.

ولا يمكن حل معادلة الحدة العظمى تحليليا analytically ولكن يمكن إستخدام Expectation-maximization (EM) algorithm. والحقيقة يمكن اعتبار mixture problem مشكلة النموذج المختلط احد الامثلة للبيانات غير الكاملة حيث معلومات الكيوتى إلى جينوتيب معلومات غائبة بالمكونات الثلاثة (A,H,B).

والفكرة الأساسية للجوريم EM algorithm هو إحلال المعلومات غير الكاملة y_i بمكوناتها الثلاثة الكاملة (y_i, A) , (y_i, H) , (y_i, B) مع وزن المعلومات الكاملة الثلاث بالاحتمال الشرطى الخاص أو الحديث Specified or Updated probabilities ويتم التدوير Iteration فى خطوتين:

الأولى: تسمى خطوة التقدير (E step) Estimation أو خطوة تحديد الأوزان $p(A/ y_i)$, $p(H/ y_i)$, $p(B/ y_i)$ أى يتم حساب الإحتمال الشرطى بإستخدام تقدير الثوابت الحالية current parameter estimates.

الثانية: تسمى خطوة التعظيم (M step) Maximization حيث يتم تحديث التقديرات للقيم μ_A , μ_B , σ^2 أى يتم إستخدام مثلاً: تحليل الانحدار الموزون Weighted Regression Analysis. ويكون حل تلك الثوابت

$$\hat{\mu}_A = \frac{\sum_{i=1}^n \left[P(A/ y_i) y_i + P(H/ y_i) \frac{1}{2} y_i \right]}{\sum_{i=1}^n \left[P(A/ y_i) + P(H/ y_i) \frac{1}{2} \right]}$$

$$\hat{\mu}_B = \frac{\sum_{i=1}^n \left[P(B/ y_i) y_i + P(H/ y_i) \frac{1}{2} y_i \right]}{\sum_{i=1}^n \left[P(B/ y_i) + P(H/ y_i) \frac{1}{2} \right]}$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \left[\sum_{i=1}^n \left[P(A/ y_i) (y_i - \hat{\mu}_A)^2 + P(H/ y_i) (y_i - \frac{1}{2})^2 \right] + \sum_{i=1}^n \left[P(B/ y_i) (y_i - \hat{\mu}_B)^2 \right] \right]$$

لو اخترنا قيم أولية لهذه الثوابت يمكن بذلك بدء الجوريم، بفرض إن y^c متجه $(1* 3n)$ أى $(y_1, y_1, y_1, y_2, y_2, y_2, \dots, y_n, y_n, y_n)$ و الرمز c يرمز إلى complete وان β هى متجه $1*p$ لعوامل الانحدار المراد تقديرها وان X^c هى

مصفوفة $(3n \times p)$ ، e^c متجه للخطأ أما المصفوفة W^c فهي مصفوفة وترية للاحتتمالات conditional probabilities الشرطية >

للفرد i مثلاً نجد أن النموذج الإحصائي

$$\begin{pmatrix} y_i \\ y_i \\ y_i \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & .5 \\ .5 & .5 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu_A \\ \mu_B \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} e_{i1} \\ e_{i2} \\ e_{i3} \end{pmatrix} \dots \text{and..weighted..by}$$

$$\begin{pmatrix} P(A / y_i) \\ P(H / y_i) \\ P(B / y_i) \end{pmatrix}$$

حيث أن النموذج الإحصائي للانحدار الموزون Weighted Regression Analysis لل M step

$$y^c = X^c \beta + e^c \quad \&$$

$$\text{weight} = W^c$$

$$\hat{\beta} = (X^{(c)'} W^c X^{(c)})^{-1} X^{(c)'} W^c y^c$$

$$\hat{\sigma} = \frac{1}{n} (y^{(c)} - X^{(c)} \hat{\beta})' W^{(c)} (y^{(c)} - X^{(c)} \hat{\beta})$$

التوزيع المختلط للنموذج الخليط :

ويمكن تطبيق التوزيعات المختلطة للنموذج الخليط لإيجاد مايسمى التأثير الخليط لمعادلات النموذج المختلط Mixed-effect mixture model equations من المعروف أن النموذج الخليط هو:

$$Y_i = X_j B + Z_j U + \epsilon_j \quad (1)$$

Y_j هي الملاحظة $n, \dots, 2, 1, U, B$ متجهات التأثيرات المحددة والعشوائية.

X مصفوفة تربط الملاحظة بالتأثيرات المحددة.

Z مصفوفة تربط الملاحظات بالتأثيرات العشوائية.

وفى حالة وجود كيوتى إل لبيانات أنصاف الاشقة نجد ان النموذج المختلط هو:

$$Y_j = X_j' B + Z_j' U + \sum_{f=1}^F \eta_j^f h_{jf} \alpha_f + \sum_{r=1}^R \zeta_j^r W_{jr}' V_r + \varepsilon_j \quad (1)$$

والجزء الأول هو النموذج الخليط لهندرسون كما سبق ذكره.

المتجه α_f ($f=1,2, \dots, F$) يمثل التأثير المحدد.

المتجه V_r ($r=1,2, \dots, R$) يمثل التأثير العشوائي.

المتجه h_{jf} يربط متجه الثوابت α_f للملاحظة Y_j وهو الصف j للمصفوفة H_f .

المتجه W_{jr} يربط المتجه V_r للملاحظة Y_j وهو الصف j للمصفوفة W_r .

η, ζ مؤشرات لمتغيرات للعوامل المحددة Indicator variables for fixed

effects. α_f, v_r تشير الى العلاقة للمتجهات غير المعروفة مع الملاحظة Y_j .

ε_j هى التأثير المتبقى Residual effect وقد وجد ان معادلات النموذج

المختلط للتأثيرات الخليطة (MEMME) mixed effect mixture model

equations هى المعادلة (٢)

$$\begin{pmatrix} X' \sum^{-1} X & X' \sum^{-1} Z & X' \sum^{-1} U_\alpha & X' \sum^{-1} U_v \\ Z' \sum^{-1} X & Z' \sum^{-1} Z + \sum_u^{-1} & Z' \sum^{-1} U_\alpha & Z' \sum^{-1} U_v \\ U_\alpha' \sum^{-1} X & U_\alpha' \sum^{-1} Z & V_{\alpha\alpha} & V_{\alpha v} \\ U_v' \sum^{-1} X & U_v' \sum^{-1} Z & V_{v\alpha} & V_{vv} + \sum_v^{-1} \end{pmatrix}^{[l]} \begin{bmatrix} \beta^{[l+1]} \\ U^{[l+1]} \\ \alpha^{[l+1]} \\ V^{[l+1]} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X' \sum^{-1} Y \\ Z' \sum^{-1} Y \\ U_\alpha' \sum^{-1} Y \\ U_v' \sum^{-1} Y \end{bmatrix}^{[l]} \quad (2)$$

حيث ان i هو رقم الدورة من التدوير Iteration

$$\begin{aligned} U_{\alpha} &= [U_{\alpha f}] \\ U_v &= [U_{v_r}] \\ V_{\alpha\alpha} &= [V_{\alpha f} \alpha_f] \\ V_{vv} &= [V_{v_r} V_{v_s}] \text{ and} \\ V_{\alpha v} &= V'_{v\alpha} = [V_{\alpha_f v_r}] \end{aligned}$$

بفرض معرفة

$$\Sigma_v = \begin{bmatrix} \Sigma_{v1} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \Sigma_{v2} & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \Sigma_{vR} \end{bmatrix}$$

$$\begin{aligned} U_{\alpha f} &= H_f * \Pi d^f \\ U_{v_r} &= W_r * \Pi d^{F+r} \\ V_{\alpha_f \alpha_r} &= H'_f \Sigma^{-1} [H_r * \Pi (d^f \# d^r)] \\ V_{\alpha_f v_r} &= V'_{v_r \alpha_f} = H'_f \Sigma^{-1} [W_r * \Pi (d^f \# d^{F+r})] \\ V_{v_r v_s} &= W'_r \Sigma^{-1} [W_s * \Pi (d^{F+r} \# d^{F+s})] \end{aligned}$$

حيث ان المتجهات Vectors هي اعمدة المصفوفة D وهى مصفوفة المؤشرات والتي تحتوى قيم المؤشرات للمؤثرات المختلطة V_r & α_r .

والمصفوفة D تصبح المعادلة (3)

$$D = \begin{bmatrix} d_1^1 & d_1^2 & \dots & d_1^F & d_1^{F+1} & d_1^{F+2} & \dots & d_1^{F+R} \\ d_2^1 & d_2^2 & \dots & d_2^F & d_2^{F+1} & d_2^{F+2} & \dots & d_2^{F+R} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ d_L^1 & d_L^2 & \dots & d_L^F & d_L^{F+1} & d_L^{F+2} & \dots & d_L^{F+R} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ \dots \\ d_L \end{bmatrix} \quad (3)$$

حيث ان المتجهات d^f, d^g, d^{F+r} and d^{F+s} هي اعمدة المصفوفة D فمثلا d^f هو ال f th عمود للمصفوفة D. و $\Pi = \{\pi_{ji}\}_{n \times 1}$ حيث

$$\phi = \text{normal density}, \quad \pi_{ji} = \frac{p_{ji} \phi(y_j / \mu_{ji}, \sigma_j^2)}{\sum_{l=1}^L p_{jl} \phi(y_j / \mu_{jl}, \sigma_j^2)}$$

$\pi_{ji} = \text{posterior probability}$ (4)

والبسط في المعادلة السابقة يمثل الاحتمال الشرطي للملاحظة J للقسم I مضروباً في الكثافة لمعادلة المنحنى الطبيعي (Normal Density Function) للملاحظة Y معطياً المتوسط والتباين للقسم I التي تقع فيه الملاحظة بينما يمثل المقام في المعادلة مجموع قيم البسط لكل الاقسام (L, I = 1, ...). وبذلك نجد ان في الاحتمال البعدى posterior probability الملاحظة y_j تقع في القسم I معطياً ملاحظة البيانات والتقدير الحالي للتأثيرات غير المعروفة θ والتي تشمل (u, v, α, β). وحساب π_{ji} هو الخطوة E في step EM الجوريثم. بينما ال M step في EM الجوريثم هو تعظيم maximize

$$E[\log f(y_c, u, v) / y, \theta'] \propto \sum_{j=1}^n \sum_{l=1}^L \log[\phi(y_j / \theta, \sigma_j^2) p_{ij} / \pi_{ji}]$$

$$-1/2 u' \Sigma_u^{-1} u - 1/2 \sum_{r=1}^R v_r' \sum_{r=1}^{-1} v_r$$

وتفاضل المعادلة السابقة بالنسبة للثوابت المراد تقديرها يعطى معادلات MEMME السابقة (المعادلة ٢) ويلاحظ ان الرموز السابقة هي الرمز # يشير إلى ضرب هامرد Hamard product. وهو ضرب عنصر بعنصر لمصفوفتين. لهما الرتبة نفسها element by element product بينما الرمز "*" هو ضرب عنصر

بعضر لكل عمود فى مصفوفة بمصفوفة من عمود فمثلا لو ان المصفوفة $A = \{a_{ij}\}_{n \times m}$ والمصفوفة العمود $b = \{b_i\}_{n \times 1}$ ويصبح حاصل ضرب Ab هو $Ab = \{a_{ij}b_i\}_{n \times m}$.

خطوات استخدام النموذج المختلط :

والمثالي التالي يوضح خطوات استخدام MEMME:

Animal	Sire	Dam	Marker Genotype	Observation
الحيوان	الطلوقة	الام	جينوتيب الماركر	الملاحظة
1	-	-	12	-23
2	-	-	34	17
3	1	2	13	-13
4	1	2	23	7
5	4	3	33	12

معدل التوافق الوراثية بين الكيوتى إلى والماركر هو ١.

وبفرض ان تباين التأثير المتبقى، وتباين التأثير البولوجينى، وتباين تأثير اليلات الكيوتى إلى هو على التوالي 5, 14, 75, 88, 177 على التوالي. الحيوان 1 & 2 هما مؤسسا العشيرة. Founder of the population لان الآباء غير معروفة. وبفرض ان الفرد الأول يحمل اليلى الكيوتى إلى Q^1, Q^2 بينما الفرد 2 يحمل الاليلين Q^3, Q^4 .

يتم حساب حل النموذج المختلط بالخطوات التالية:

أولا: الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتى إلى:

طريقة التأثير الخليط لمعادلات النموذج المختلط MEMME لتطبيق (م ا س) MAS يتطلب معرفة الاحتمال الشرطى Conditional probability لجينوتيب الكيوتى إلى فى وجود معلومات الماركر وذلك للاستدلال على اليلات الكيوتى إلى المنقولة من الآباء للأبناء بناءً على معلومات الماركر. بفرض وجود كيوتى إلى مرتبطة السيادة Codominant Marker له معدل توافق C حيث :

$$M_i^1 \text{ linked with } Q_i^1 \text{ \& } M_i^2 \text{ linked with } Q_i^1.$$

لو ان اليل الماركر M_i^1 إنتقل من الاب i للنسل z نجد ان الاحتمال الشرطي ان النسل يستلم اليلات الكيوتى إل $Q_i^1 & Q_i^2$ هى $1-c$ و c على التوالى. وإحتمالات لانتقال $Q_i^1 & Q_i^2$ هو c و $1-c$ لو كان اليل الماركر M_i^2 هو المنتقل.

الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتى إل معطا الهابلوتيب المنتقل للماركر التى تحصر الكيوتى إل كما فى الجدول الاتى:

Marker Haplotype M	Haplotype Frequency	Transimition Probability	
		$Tr(Q_i^1/M)$	$Tr(Q_i^2/M)$
$M_i^1 - N_i^1$	$1-c/2$	$(1-c_1)(1-c_2)/(1-c)$	$c_1c_2/(1-c)$
$M_i^1 - N_i^2$	$c/2$	$(1-c_1)c_2/2$	$c_1(1-c_2)/c$
$M_i^2 - N_i^1$	$c/2$	$C_1 (1-c_2) /2$	$(1-c_1)c_2 /c$
$M_i^2 - N_i^2$	$1- c/2$	$c_1c_2/(1-c)$	$(1-c_1)(1-c_2)/(1-c)$

c معدل التوافق بين الماركرين c_1, c_2 معدل التوافق بين الكيوتى إل والماركرز M, N الماركرز الأبوية والكيوتى إل فى حالة التجاذب Coupling وتوزيع اليلات الكيوتى إل لكل نسل فى العشيرة يمكن الاستدلال عليه من توزيع اليلات الكيوتى إل لأبائهم واليلات الماركر الموروثة من الآباء. وان إحتمال النسل z للحصول على اليل الكيوتى إل A^+ من الاب S هو المعادلة رقم I وان إحتمال النسل z للحصول اليل الكيوتى إل A^+ من الام d هو المعادلة II .

$$I) pr(Q_j^P \equiv A^+) = pr(Q_s^P \equiv A^+)Tr(Q_s^P / M) +$$

$$pr(Q_s^m \equiv A^+)[1 - tr(Q_s^P / M)]$$

$$II) pr(Q_j^m \equiv A^+) = pr(Q_d^m \equiv A^+)Tr(Q_d^m / M) +$$

$$pr(Q_d^P \equiv A^+)[1 - tr(Q_d^m / M)]$$

حيث ان:

$$Q_j^P, Q_j^m, Q_s^P, Q_s^m, Q_d^P, Q_d^m$$

هى الـيلات النسل الابوية Descendant's paternal allele والـيلات النسل الأموية Descendant's maternal allele، الـيل الأب الأبوي father's paternal allele، الـيل الأب الأموي father's maternal allele، الـيل الأم الأبوي mother's paternal allele والـيل الأم الأموي mother's maternal allele.

وان $Tr(Q_s^p / M)$ هو إـتـمـال الإـنـتـقال الشـرـطـى للنـسل بان يـسـتـم الـيل الأب لـابـوى للـكـيـوتى إـلـى QTL مـعـطـا إـنـتـقال المـارـكـر هـابـلـوتـيـب. و $Tr(Q_d^m / M)$ هو إـتـمـال الإـنـتـقال الشـرـطـى للنـسل بان يـسـتـم الـيل الأم الأموي للـكـيـوتى إـلـى مـعـطـا إـنـتـقال المـارـكـر هـابـلـوتـيـب. و يـلـاحـظ ان $Tr(Q_s^p / M)$ و $Tr(Q_d^m / M)$ يـصـبـحـا $1-c$ ، c فى حـالـة المـارـكـر الفـرـدى Single Marker.

والـجـدول الـاتى يـمـثـل الإـحـتـمـال الشـرـطـى لـاـيـلـات الكـيـوتى إـلـى للأـفـراد ($c=1$) فى المـثـال السـابـق:

Animal	الأليل الأبوي Paternal allele				الأليل الأموي Maternal allele			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1	0	0	0	0	1	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	1
3	.9	.1	0	0	0	0	.9	.1
4	.1	.9	0	0	0	0	.9	.1
5	.09	.01	.81	.09	.01	.09	.81	.09

ثانيا: المصفوفة D هى:

وهى التوافق الزوجية لتأثيرات الـيلات الكـيـوتى إـلـى

$$D = \begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 2 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 2 \end{bmatrix}$$

والجدول التالي يبين الاحتمال الشرطي للكيوتى إل جينوتيب لكل فرد
(عناصر Π) للدورة الاولى من التدوير first iteration:

الكيوتى إل جينوتيب QTL Genotype

Animal	11	12/21	13/31	14/41	22	23/32	24/42	33	43/43	44
1	0	10000	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	10000	0
3	0	0	8100	900	0	900	100	0	0	0
4	0	0	900	100	0	8100	900	0	0	0
5	9	82	810	90	9	810	90	6561	1458	81

12/21 هي الجينوتيب 12 أو 21 وكذلك 13/31 هي الجينوتيب 13 أو الجينوتيب 31 وهكذا وبناءا على الاحتمالات الشرطية والمصفوفة D مع التقديرات الحالية للتأثيرات غير المعروفة، يتم حساب قيمة المصفوفة Π باستخدام المعادلة (4).

والاحتمالات الشرطية فى الجدول السابق والمصفوفة D تكون ثابتة خلال دورات الالجوريثم EM algorithm. بينما U_a ، V_{aa} تتغير مع التدوير change with iteration. وباستخدام الصفر للقيم الاولى لكل قيم المواقع تصبح المصفوفة V_{aa} ، U_a هي :

$$U_a = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 \\ .9 & .1 & .9 & .1 \\ .1 & .9 & .9 & .1 \\ .1 & .1 & 1.62 & .18 \end{bmatrix},$$

$$V_{aa} = \begin{bmatrix} 2.10 & 1.01 & .98 & .11 \\ 1.01 & 2.1 & .98 & .11 \\ .98 & .98 & 5.73 & 1.15 \\ .11 & .11 & 1.15 & 1.40 \end{bmatrix}$$

ثالثًا: وتصبح الدورة الأولى من معادلات النموذج المختلط للتأثيرات الخلطة هي:

$$\begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{U}_1 \\ \hat{U}_2 \\ \hat{U}_3 \\ \hat{U}_4 \\ \hat{U}_5 \\ \hat{a}_1 \\ \hat{a}_2 \\ \hat{a}_3 \\ \hat{a}_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 5 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2.1 & 2.1 & 4.42 & 1.38 \\ 1 & 5 & 2 & -2 & -2 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 5 & -2 & -2 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & -2 & -2 & 6 & 1 & -2 & .9 & .1 & .9 & .1 \\ 1 & -2 & -2 & 6 & 1 & -2 & .9 & .1 & .9 & .1 \\ 1 & 0 & 0 & -2 & -2 & 5 & .1 & .1 & 1.62 & .18 \\ 2.1 & 1 & 0 & .9 & .1 & .1 & 14.1 & 1.01 & .98 & .11 \\ 2.1 & 1 & 0 & .1 & .9 & .1 & 1.01 & 14.1 & .98 & .11 \\ 4.42 & 0 & 1 & .9 & .9 & 1.62 & .98 & .98 & 17.73 & 1.15 \\ 1.38 & 0 & 1 & .1 & .1 & .18 & .11 & .11 & 1.15 & 13.41 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 0 \\ -21 \\ 17 \\ -13 \\ 7 \\ 12 \\ -328 \\ -168 \\ 31.04 \\ 18.56 \end{bmatrix}$$

رابعًا: حساب القيمة التربوية BV :

يتم حساب القيمة التربوية من المعادلة التالية

$$BV = u + \Pi D A$$

حيث u تمثل التأثير البولوجينى، و Π مصفوفة الاحتمالات الشرطية، والمصفوفة D مصفوفة تحتوى كل قيم مؤشرات المتغيرات للتأثيرات المختلطة $\cdot V_r, \alpha_f$

الجدول الآتى يمثل التأثير البولوجينى والقيمة التربوية المحسوبة رقم الحيوان

5	4	3	2	1	MEMME
2.50	2.15	-1.49	5.84	-5.84	البولوجينات
5.61	3.17	-1.67	8.32	-8.32	القيمة التربوية

والجدول التالي يبين الحل لثلاث دورات

μ	U1	U2	U3	U4	U5	a1	a2	a3	A4
-1.257	-5.846	5.846	-1.485	2357	2518	-1.725	-738	1.536	.926
-1.275	-5.841	5.841	-1.487	2350	2498	-1.741	-738	1.555	.923
-1.275	-5.840	5.840	-1.487	2349	2498	-1.740	-738	1.556	.922

مزايا النموذج المختلط :

وهناك مزايا للنموذج المختلط وهي:

أولاً: تقييم MEMME هو تقدير تدويري Iterative ويعتمد على استخدام EM algorithm مع وجود جينوتيب QTL غير معروف ومعاملته كبيانات غير معروفة Missing Data.

ثانياً: كل متجه α vector هو جزء من المتجه α يجب ان يعامل منفصلاً عن حساب المصفوفة U, V وكذلك بالنسبة للمتجه v_r من المتجه V . (ولا يمكن ملاحظة ذلك في معادلة هندرسون).

ثالثاً: معادلات α و V في النموذج المختلط لها تركيب مختلف حيث ان

$$V_{\alpha\alpha} \neq U_{\alpha}' \Sigma^{-1} U_{\alpha}, V_{vv} \neq U_v' \Sigma^{-1} U_v, V_{\alpha v} \neq U_{\alpha}' \Sigma^{-1} U_v$$

رابعاً: يساعد النموذج المختلط على استخدام طريقة لتقييم الكيوتي إلى وتقدير تأثيرها وكذلك تقدير وضع النموذج الجاميطي غير المختلط للتقييم باستخدام الماركر الوراثي.

خامساً: لا يقيم النموذج المختلط فقط نموذج الحيوان-الكيوتي إلى Animal-QTL effect model وهو نموذج غير مختلط (non mixture model) والذي يحدد تأثير اليلات الكيوتي إلى لكل موقع، ولكل حيوان، ولكن يحدد أيضاً مثلاً: النموذج المختلط للنماذج Sire-QTL-effect model، Sire-dam-QT effect models، Grandsire-QTL-effect models، Fouder-QTL effect models وهكذا.

سادساً: مرونة النموذج المختلط في تقدير تأثير الكيوتي إلى لاجيال مختلفة وكما يسمح أيضاً باستخدام الكيوتي إلى كعامل عشوائي random أو عامل محدد fixed.

سابعاً: تطبيقات النموذج المختلط ليست فقط فى (م ا س) MAS، ولكن يمكن تطبيقه فى خرائط الكيوتى إل، فيمكن استخدام معادلاته فى تقدير تأثير الكيوتى إل فى خرائط المسافات الوراثية. وكذلك معادلات خرائط المسافات الوراثية فى نظم الخلط الرجعى، ومعادلات خرائط المسافات الوراثية لنظم الخلط بين خطين two line crossing. ويستخدم كاداة إحصائية للعوامل المستقلة غير المعروفة uncertain independent variable فى تقييم الطلائق فى حالة الآباء غير المعروفة أو مجموعات الطلائق المتعددة (joining) والتي تظهر فى تربية ماشية اللحم.

ثامناً: تحليل النموذج المختلط للكيوتى إل فى عشائر الأبعاد يكون معقداً وذلك لان جينوتيب الكيوتى إل غير معروف uncertain ووجود قرابة بين أفراد القطيع لذلك يجب ان يكون التوزيع للملاحظات ممثلاً فى معادلة الحدة العظمى Likelihood function. وبالتالي متجه الملاحظات الممثل فى توزيعات الجينوتيب الممكنة هو توزيعات مختلطة لمتجه الملاحظات Mixture Distributions of observation vector، ويكون عدد مكونات التوزيع المختلط (عدد توزيعات جينوتيب الكيوتى إل) فى معادلة الحدة العظمى كبيراً جداً، ويتزايد مع حجم العينة. حيث لا يمكن إيجاد تحليل لمعادلة الحدة العظمى بالضبط، وهنا يمكن التعبير عن توزيع متجه الملاحظات كحاصل ضرب توزيعات الملاحظات الفردية حيث $f(y, u, v) = f(y/u, v) f(u) f(v)$ يمكن تعظيمها. وحيث ان $f(y/u, v)$ يمكن إيجادها كحاصل ضرب التوزيعات للملاحظات الفردية لان Y_{ij} مستقلة عن بعضها البعض معطى U, V ولو كانت مصفوفة التباين، والتباين المشترك Variance-covariance matrix مصفوفة وثرية. عندئذ نجد ان $y/\beta, u, \Sigma \sim N(x\beta + ZU, \Sigma)$ وكما هو الحال فى معادلة النموذج الخليط Mixed linear model مما يجعل تركيب معادلة الحدة العظمى أكثر سهولة.

الباب الثاني عشر
المركز والتنوع الوراثي

الباب الثاني عشر المركز والتنوع الوراثي Markers and Genetic Diversity

تلعب المراكز دورا هاما في دراسة التنوع الوراثي وتحديد الأجناس والأنواع المختلفة وكذلك تحديد وشرح نظم التوطن Domestication ونظم الهجرة للأنواع المختلفة في المناطق الجغرافية المختلفة وهناك ثوابت هامة للمراكز يجب تقديرها عند دراسة التنوع الوراثي وأهمها:

- ١- عدد الأليلات وتكرارها لكل موقع، وكذلك عدد التراكيب الوراثية وتكرارها لكل موقع.
- ٢- حجم الأليل والمدي الذي يتراوح فيه حجم الأليل، والعدد الفعال للأليلات Effective Number of allele.
- ٣- رقم الكروموسوم الذي يقع فيه المراكز.
- ٤- التتابع Sequencing بالنسبة لقواعد الدنا-DNA لكل مراكز في الأجناس أو الأنواع المختلفة
فمثلا: (هل هذا التتابع مختلف في الأبقار عنه في الجاموس).
- ٥- درجة الخلط Heterozygosity وكذلك محتوى المعلومات للتعددية الجينية Polymorphism Information Content (PIC).
- ٦- خرائط المقارنة Comparative mapping.

التماثلية في التنوع الوراثي Orthologus In DNA Sequence :

يستخدم تتابع القواعد وتكرارها في الدنا لمعرفة التماثلية Orthologus بين الدنا للأجناس والأنواع المختلفة (الجاموس والبقر مثلا) بمعنى أن يستخدم مايكروساتليت ماركر Microsatellite لموقع معين أو لعدد من المواقع لمعرفة تتابع القواعد في الجاموس مثلا مع نظيرتها في البقر. مما يعني وجود تتابع بسيط Simple Repeat للدنا بين الأجناس المختلفة وكلما زادت نسبة التماثلية (> 70%) بين الدنا للأجناس المختلفة، كلما دل ذلك علي أن الماركر المستخدم لتحديد ترتيب القواعد لموقع معين في جنس معين يمكن أن يستخدم نفسه في تحديد موقع تماثل في جنس آخر وهذا إحدى خطوات التحليل الجينومي المقارن

بين الأجناس المختلفة وبالتالي يمكن معرفة مدى التطور وكذلك معدل حدوث الطفرة للأجناس المختلفة.

هناك استخدام للبصمة الوراثية Genetic Fingerprinting وذلك بتعظيم السيادة Maximizing Dominance في الخلط وتعظيم قوة الهجين Maximizing Heterosis وذلك بالتنبأ بقوة الهجين من التنوع الوراثي على مستوى الدنا الخلط Heterozygosity. تدل نسبة التركيب الخليط (H) في العشيرة على معدل تكرار المواقع الخليطة في العشيرة، ويمكن استخراج نسبة التركيب الخليط في العشيرة باستخدام المعادلة الآتية:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

n = عدد الأليلات، P_i = تكرار الأليل i في العشيرة
Polymorphism Information Content (PIC) ويكون محتوى المعلومات في التعددية الأليلية

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2 \leq [(n-1)^2(n+1)]/n^3$$

n = عدد الأليلات، P_i = تكرار الأليل i، P_j = تكرار الأليل j والتي هي احتمال أن أحد الآباء خليط الماركر Marker Heterozygote وزيجته لها جينوتيب مختلف (أي تزاوج رجعي، أو تام المعلوماتية مع إستبعاد عائلات الخلط الداخلي) وفي هذه الحالة يمكن أن نميز بين الأليلات الماركر البديل للأب الأول، في كل النسل من هذا الخلط.

والحد الأعلى Upper bound $[(n-1)^2(n+1)]/n^3$ يحدث عندما تكون كل الأليلات الماركر لها تكرار متساوي $P_i = 1/n$.

وتكون نسبة التزاوج للمعلومات التامة Proportion of fully informative matings (PFIM) حيث تكون الأليلات الماركر من كل من الأبوين يمكن تمييزها في كل النسل الناتج ويمكن حساب تلك النسبة كالتالي:

$$PFIM = \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j \left[\left(\sum_{k=1}^{n-1} \sum_{l=k+1}^n 2p_k p_l \right) - 2p_i p_j \right] \leq [(n-1)(n-2)(n+1)]/n^3$$

حيث ان i, j, k ترمز للآليات المختلفة للماركر.

والأب معلوماتي الماركر ليس من الضروري أن يكون معلوماتيا للكيوتى إل. والكيوتى إل التى لها n_Q ، يكون ال i^{th} اليل منهم له تكرار q_i ويكون إحتمال أن أب خليط للكيوتى إل (فى تزواج عشوائى) هو :

$$(1 - \sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2) \leq (1 - \frac{1}{n_Q})$$

والعشيرة التى يكون الآباء فيها فى حالة إتران عشوائى، يكون إحتمال (على الأقل) واحد من الآباء خليط مزدوج (QTL/Marker) للكيوتى إل/ماركر، والآليات الماركر البديلة من هذا الأب لا يمكن تميزها فى كل النسل إى إحتمال انه على الأقل أب واحد تام المعلوماتية هو:

$$\text{Pr(at least one parent fully Informative)} = PIC * (1 - \sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2)$$

وإحتمال ان يكون الأبوين تاما المعلوماتية هو

$$\text{Pr(both parents fully informative)} = PFIM * (1 - \sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2)^2$$

وعموما نتوقع ان معظم الآباء غير معلوماتيا لتوليفة (الكيوتى إل/ماركر).

مثال:

عشيرة ينعزل فيها خمسة اليلات لموقع لماركر عندئذ تكون قيمة

$$PIC = (4^2 * 6) / 5^3 = .768 \quad \text{and} \quad PFIM = 4 * 3 * 6 / 5^3 = .576$$

لذلك للحصول على ١٠٠ عائلة معلوماتية الماركر لأب واحد على الأقل هو: $130 = 100 / .768$ عائلة مسحوبة عشوائيا يجب فحصها. ولو أردنا ان تكون العائلات معلوماتية لكل من الأبوين يجب فحص $174 = 100 / .576$ عائلة، ذلك لو كان هناك خمسة اليلات متساوية التكرار.

لو فرضنا ان الماركر مرتبط لكيوتى إل وله اليلات ثلاثة لهم التكرار، 2، 3، 5. يصبح إحتمال ان يكون الفرد خليط للكيوتى إل هو $(.5^2 + .3^2 + .2^2) = .62$. وللحصول على 100 عائلة التى يكون فيها إحدى أو كل من الأبوين تام

المعلوماتية يتطلب فحص على الأقل $130/62 \approx 210$ عائلة و $453=174/62$ عائلة عشوائية على الترتيب.

وتستخدم قيمة PIC لتحديد كمية البلومورفيزم أي هي مقياس للتعددية الاليلية أو مقياس لتكرار اليلات الجين أو الماركرز. ويعتبر الماركر متعدد الاليلية Polymorphic إذا كانت $H > 0.1$ بينما يعتبر الماركر Highly Polymorphic متعدد الاليلية جدا، إذا كانت $H > 0.7$. ويتضمن التعريف أن الماركر متعدد الاليلية عندما يكون الاليل الأكثر تكرارا له تكرار أقل من 95% وتصبح قيمة $H = 1 - (0.95)^2 = 0.1$ كما يعتبر أيضا الماركر متعدد الاليلية جدا Highly Polymorphic عندما يكون الاليل الأكثر تكرارا له تكرار أقل من 55%.

يمكن تقدير قيمة غير متحيزة لنسبة الخليط وتباينها لعينة حجمها n

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1} (1 - \sum_{i=1}^l \hat{P}_i^2)$$

$$V(\hat{H}) = \frac{n}{(n-1)^2} \{ \sum_{i=1}^l \hat{P}_i^2 - [\sum_{i=1}^l \hat{P}_i]^2 \}$$

ولو كان معامل التربية الداخلية هو F تصبح قيمة H المتوقعة في العشيرة $H(1-F)$ حيث أن H هي مقياس للخلط في العشيرة بالنسبة لموقع معين. وكلما زادت نسبة H تقل نسبة الثبات في العشيرة بالنسبة لموقع معين أو قلة نسبة التماثل في العشيرة وأن قيمة PIC هي أيضا دليل يقيس التعددية الاليلية لجين معين وبالنظر لقيمة PIC وقيمة H يمكن ملاحظة العلاقة بينهما لذلك عندما تكون $PIC > 0.5$ مرتفعة يكون دليلاً على تعددية مرتفعة أو بلومورفيزم مرتفع بالنسبة لجين معين. بينما لو كانت $0.25 < PIC < 0.5$ هذا يدل على أن الموقع في مستوى متوسط للبلومورفيزم. وتعتبر قيمة 0.25 قيمة منخفضة للبلومورفيزم.

وتعتبر قيمة H مقياساً خاصاً بالليل معين، بينما قيمة PIC مقياساً خاصاً بموقع معين علي الكروموسوم حيث تمثل H حداً أعلى لقيمة PIC.

ويمكن تقدير H, PIC لكل بريمير أو لكل ماركر عند استخدام طريقة المايكروساتليت Microsatelite المستخدمة للتمييز بين عشائر الأجناس، والأنواع المختلفة، حيث أن دراسة الخصائص الوراثية لعشائر الأجناس، والأنواع المختلفة يساعد علي تقييم الاختلافات، والتباين الوراثي بين العشائر المختلفة. وهذا عامل مهم في تحديد إستراتيجيات التربية، وكذلك في برامج

المحافظة علي الأنواع وخصوصا في قطعان الماشية والأغنام والماعز والتي يستخدم معها تقنيات مثل التلقيح الصناعي، ونقل الأجنة والانتخاب، والتي تقلل من التباين الوراثي في العشيرة.

ويمكن حساب التنوع الوراثي Genetic Diversity كدالة في قيمة الخليط حيث أن قيمة التنوع الوراثي هي:

حيث أن P_{ij} تكرار الاليل i عند الموقع j و L تمثل عدد الاليلات وقيمة n تمثل عدد المواقع.

المركز المعلوماتي Informative Marker :

يعتبر الماركر معلوماتيا عندما يتم التقييم بطريقة تؤكد أن أليل من الفرد توارث من الأب أو من الأم، وهذا يحدث عندما يكون الأب خليط وله طور معروف. وأن الفرد نفسه له طور معروف. وإحتمال أن يكون الماركر معلوماتيا هو دالة في عدد الاليلات m عند موقع الماركر ويكون الهم التكرارات P_1, P_2, \dots, P_m عندئذ تصبح S هي

$$S = 2 \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m (p_i p_j (1 - p_i p_j)^2)$$

$$D = -\ln(I)$$

وتصبح قيمة S عند وجود أليلين فقط لها التكرارات P_2, P_1 هي $S = 2 p_1 p_2 (1 - p_1 p_2)^2$ وهناك علاقة بين قيمة S وقيمة PIC ولكن قيمة PIC تأخذ في اعتبارها إذا كان الأب خليط، وأن النسل له طور معروف Coupling or (Repulsion) بينما تأخذ S في اعتبارها إذا كان للأب طور معروف أم لا. لذلك يعتبر الماركر له قوة معلوماتية أقوى Potentially Informative إذا كان الأب خليط وله طور معروف. وتعتبر قيمة S هي القيمة المتوقعة للخلط في وجود إتزان (هاردي واينبرج) في العشيرة أي تصبح $S = H$.

حيث $n =$ عدد الاليلات، $P_i =$ تكرار الاليل i في العشيرة.

ويكون الماركر غير كامل المعلوماتية Incomplete Informative عندما تكون الأطوار Coupling or Repulsion غير مرئية، لوجود السيادة وهناك حالة خاصة لغياب المعلومات عن الماركر هو الانتخاب للتراكيب الوراثية

Selective Genotyping حيث تجمع بيانات الماركر فقط للقيم المظهرية الطرفية
Extereme Phenotyping Value.

أنواع التزاوج للماركر المعلوماتي :

- ١- تزاوج تام المعلوماتية (MiMj*MkMI) Full Informative ويكون فيه الآباء خليطاً ولهم ماركر مختلف ويكون النسل معلوماتياً في التمييز بين الاليلات البديلة لكل من الأبوين.
- ٢- التزاوج الرجعي (MiMj* MkMk) Backcross ويكون إحدى الأبوين له ماركر خليط، بينما الأب الآخر له ماركر أصيل. ويكون النسل كله معلوماتياً في التمييز بين الآباء الخليطة للاليلات البديلة.
- ٣- التزاوج الداخلي (MiMj*MiMj) Intercross وكل من الأبوين لهما الماركر الخليط نفسه. ويكون النسل الأصيل معلوماتياً في التمييز بين الاليلات البديلة.

مقاييس المعلوماتية Measures of Informativnes :

أن الفرق الرئيسي بين تحليل خليط الخطوط المرباة تربية داخلية Crosses Inbred Lines مقابل العشائر المرباة تربية متباعدة Outbred population هو: أن الآباء في الأول تكون متجانسة بينما في الأخيرة تكون وراثياً متباينة ونتائج هذا التمييز هو:

- ١- ان هناك جزء فقط من الآباء من العشيرة المرباة تربية متباعدة يكون معلوماتياً. ويجب ان يكون الاب خليطاً (عند موقع الماركر وموقع الكيوتي إلى مرتبطة معه حتى يمكن للأب أن يكون مصدراً للمعلومات المرتبطة وراثياً. حيث يمكن للماركر المصاحب للصفة ان يظهر في النسل. وهناك جزء عشوائى فقط من الآباء من العشيرة المتباعدة Outbred population يكون خليطاً، بينما يكون F1 للخطوط الأصلية Inbred Lines خليطاً لكل المواقع، والتي تختلف باختلاف الخطوط الخليطة Crossed lines، وبالتالي تكون كل الآباء كاملة المعلوماتية.

- ٢- اليلن فقط ينعزلا عند أى موقع فى نظام خلط الخطوط الأصلية Inbred-line Cross Design, بينما فى العشائر المتباعدة Outbred population يمكن أن ينعزل فيها أى عدد من الاليلات.

٣- تختلف الأفراد في العشائر المتباعدة Outbred population، في طور إرتباط الماركر - كيو تي إل حيث أن الجاميط التي تحمل الاليل M تكون مرتبطة باليل Q للكيوتي إل في جزء ما، بينما ترتبط بالاليل q في جزء آخر. لذلك من الضروري فحص كل أب منفصلاً في العشائر المتباعدة لوجود المصاحبة بين الماركر والكيوتي إل. بينما في خليط الخطوط الأصلية F1 تكون الآباء متطابقة الجينوتيب (حتى مشتملة في طور الارتباط). لذلك يمكن اخذ متوسط الصفة المصاحبة للماركر لكل النسل بغض النظر عن آباء هذا النسل.

٤- ويكون الأب معلوماتيا للماركر إذا كان خليطاً للماركر. كما يكون معلوماتيا للكيوتي إل إذا كان خليطاً للكيوتي إل. وإذا لم يكن كلا من الماركر والكيوتي إل متعدد الاليلية Polymorphic تكون الآباء غير معلوماتية. وفي حالة وجود الرغبة لتعظيم جزء الآباء المعلوماتية للماركر، أقسام مواقع الماركر التي تستخدم بنجاح مع الخطوط الأصلية Inbred lines ممكن ألا تكون المثلى للعشائر المتباعدة. على سبيل المثال: الماركر RFLP أستخدم في الخطوط الأصلية Inbred lines على نطاق واسع وهذا الماركر هو ماركر ذو اليلين أي له تعددية اليلية متواضعة. بينما ماركر الساتليت هي ماركر عالية التعددية اليلية وبالتالي تنتج أفراد ذو ماركرز عالي المعلوماتية.

الماركر والمسافات الوراثية بين العشائر:

عند دراسة التنوع الوراثي من المهم معرفة المسافات الوراثية بين عشائر الأنواع أو عشائر الأجناس. ويتم ذلك بحساب معامل التماثل بين الأنواع. فمثلاً: لو كان عشيرتين X, Y لكل منهما عدد من المواقع r، ولكل موقع عدد من الاليلات m عندئذ يمكن حساب:

١- تكرار الاليل i من الموقع z في العشيرة X أو العشيرة Y ويرمز لهذا التكرار X_{iz}, Y_{iz} .

٢- متوسط احتمال الاليلات المتمثلة لمواقع إختيرت عشوائياً للعشيرة X, Y .

$$I = J / \sqrt{J_x J_y}$$

$$J_x = \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^{m_i} X_{ij}^2 / r$$

$$J_y = \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^{m_i} Y_{ij}^2 / r \quad -٣$$

$$J_{xy} = \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^{m_i} X_{ij} Y_{ij} / r$$

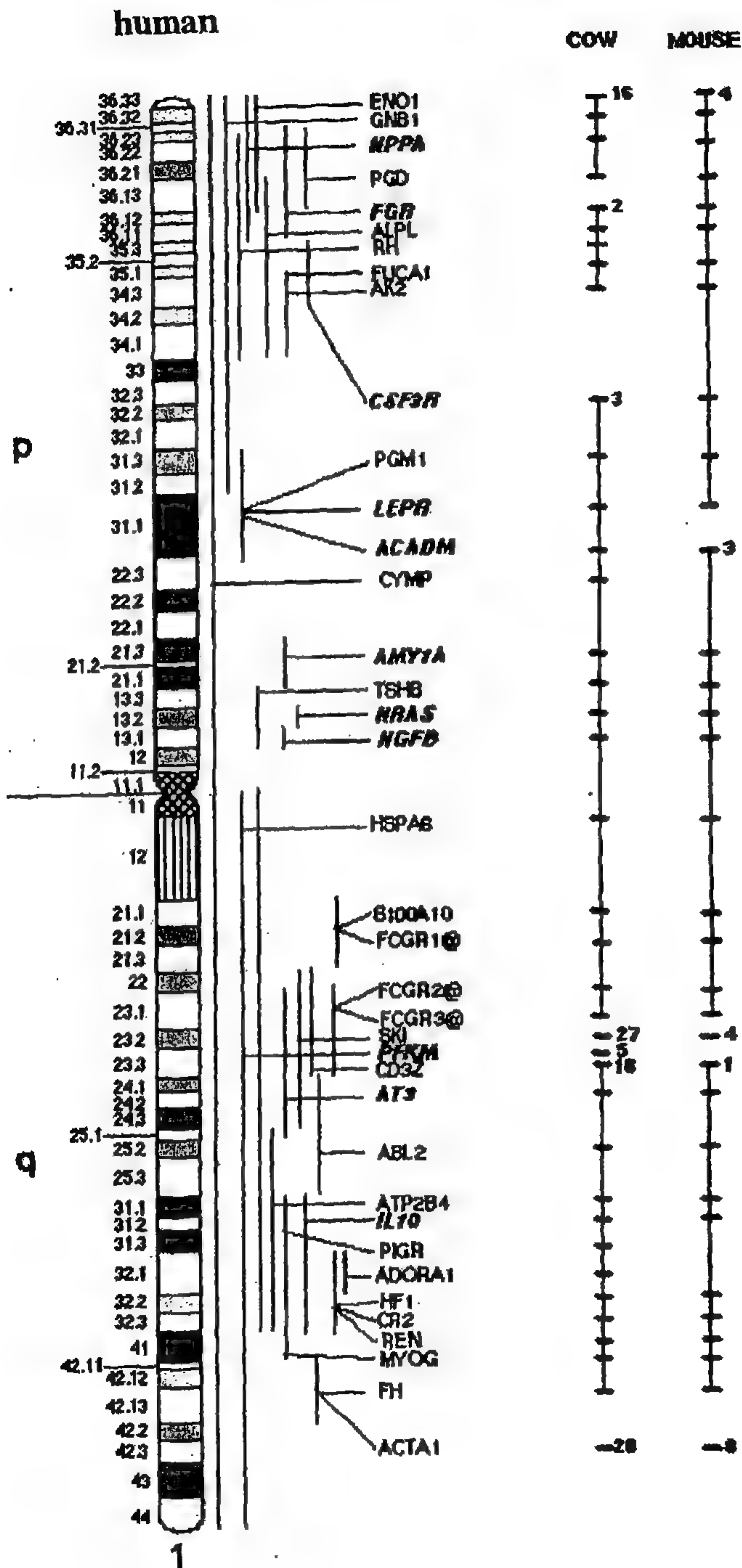
٤- حساب قيمة المسافات الوراثية بين العشائر $D = -\ln(I)$.

خرائط المقارنة Comparative Mapping :

تبنى خرائط المقارنة علي تماثلية الجينوم، وهي إستراتيجية تزيد من دور الماركرز في تحديد الأجناس وعلاقتها ببعضها بعضاً عند وجود معلومات غير كافية، أو عند صعوبة معلومات من الخرائط الوراثية. وتستخدم هذه الإستراتيجية للحصول علي معلومات من الأجناس التي توجد صعوبات عند دراستها كالإنسان مثلاً، والأجناس التي من السهل دراستها مثل الفئران، فالمعلومات للجينوم البسيط يمكن تطبيقها وإستخدامها للجينوم المعقد من الشعير للقمح مثلاً.

والرسم التالي يبين :

المناطق المتماثلة في الكروموسوم في الإنسان والكروموسوم 28 في البقر والكروموسوم 8 في الفئران.



الباب الثالث عشر
الإنتخاب الوراثي للمقاومة للمرض

الباب الثالث عشر الانتخاب الوراثي للمقاومة للمرض

أولاً: العقبات التي تواجه الانتخاب للمقاومة للمرض:

- ١- صعوبة تحديد القيمة المظهرية للمقاومة للمرض.
- ٢- صعوبة تحديد مدى المقاومة للمرض، بمعنى أنه في عشيرة من الحيوانات السليمة، والمريضة لا يمكن تحديد ما إذا كانت الحيوانات السليمة هي فعلاً مقاومة للمرض. أن تكون تعرضت لمدة غير كافية للميكروب، وبدرجة تظهر المرض.
- ٣- الحيوانات التي تبدو سليمة يمكن أن تكون حاملة للمرض أو تكون معدية تحت إكلينيكي Subclinical Infection.
- ٤- الأعراض المرضية التي تظهر على الحيوانات لمرض معين، لا يمكن تمييزها عن أعراض أمراض أخرى، فمثلاً: أعراض التهاب الرئوى لا يمكن تمييزها عن أعراض التهاب الشعب الهوائية، أو عدوى الجهاز التنفسي.
- ٥- قد يكون مكلفاً أو غير أخلاقي تعرض الحيوان السليم لميكروب المرض لتحديد مدى مقاومة الحيوان للمرض.
- ٦- انتخاب الحيوان للمقاومة لميكروب معين، يمكن أن يؤدي إلى أن يصبح الحيوان نفسه أكثر حساسية للإصابة بميكروب آخر.
- ٧- الاحتفاظ بالنظام الدفاعي في حالة إتران Homestasis بدون أن يؤدي إلى مناعة ذاتية يكون من الصعب تحقيقه.

ثانياً: متى يمكن إدخال المقاومة للمرض في برامج التربية:

- ١- يجب توفير تكاليف اقتصادية مرتفعة للمرض حتى يمكن الانتخاب للمقاومة للمرض. ويكون التحسين الوراثي أكثر فاعلية عند وجود مغامرة قليلة Low Risk للسيطرة على المرض.
- ٢- هناك تباين وراثي كافى للمقاومة للمرض Resistance to disease أو تحمل المرض Tolerance to disease بين الأنواع المختلفة للحيوانات، وكذلك داخل النوع الواحد، مما يسمح بتحسين وراثي فعال. أو الفصل بين المقاومة للمرض Resistance to disease وتحمل المرض Tolerance to disease حيث أن التحسين الوراثي في العائل المقاوم للمرض، يكون التأثير على نقل العدوى،

بينما التأثير عند الانتخاب لتحمل المرض يؤدي إلى تقليل أعراض المرض، ولكن لا يقلل من تأثير انتقال العدوى للحيوانات الأخرى. وقد وجد أن هناك أكثر من 50 مرضاً أظهر مقاومة للعائل أو تحمله للمرض بين الأجناس المختلفة ومن أمثلة ذلك: مرض مارك في الدواجن Marek's وعدوى F4, F18 لبكتريا E coli في الخنازير، وعدوى النماتودا والتهاب الضرع في الأبقار.

٣- يكون هناك قيمة إقتصادية ومنافع إجتماعية من إدخال المقاومة لمرض معين فمثلاً إمتناع المستهلك عن منتج معين لوجود خطورة نتيجة لوجود بقايا المضادات الحيوية، أو صعوبة علاج مرض معين مثل: أنفلونزا الطيور، يكون الانتخاب بديلاً مفضلاً.

٤- إذا أصبح استخدام المضادات الحيوية أو الأدوية الأخرى غير مجدى في علاج الحيوان لوجود مقاومة للميكروب ضدها، هنا يصبح الانتخاب للمقاومة للمرض دور هام.

٥- الانتخاب الوراثى للمقاومة للمرض يمكن ان يكون مفيداً عند عدم توافر الفاكسين أو الأدوية الأخرى. وكذلك عند عدم المقدرة على إستخدام الفاكسين، أو الأدوية الأخرى، كما فى حالة إنتاج اللحم.

٦- الانتخاب يكون مهماً أيضاً لعدد من الأمراض والتي فيها يصيب عدد من الميكروبات الحيوان بالطريقة نفسها.

ويكون الانتخاب غير مفضلاً عندما يتسبب الانتخاب للمقاومة للمرض فى قلة الإنتاج مثل: صفات النمو، والكفاءة التحويلية للغذاء فمثلاً: الانتخاب لمعدل النمو فى الرومى يزيد من معدل الإصابة بالنيوكاسل.

والتحدى الأكبر عند الانتخاب للمقاومة للمرض هو التحديد الدقيق للقيمة المظهرية للمقاومة للمرض Phenotype of Disease Resistance أو إيجاد ماركز يمكن الإعتماد عليه أى له قيمة تتبأ عالية للقيمة المظهرية للمرض فمثلاً: بعض الأمراض لها مظاهر إكلينيكية وتحت إكلينيكية بينما أمراض أخرى تأخذ الأعراض الإكلينيكية فقط فى الاعتبار.

ومعرفة طبيعة عدوى المرض Mode of Disease Infection، وإستجابة الحيوان لها هى أساسية لمعرفة التعقيد فى الانتخاب لعدوى المرض حيث يجب ان يخترق الميكروب بدرجة كافية لكل الموانع الدفاعية للحيوان، ويهاجم الخلايا، ويتكاثر فيها.

ثالثا: الموانع الدفاعية للمرض في الجسم:

هناك ثلاثة موانع دفاعية في الجسم ضد العدوى:

أ - المناعة الطبيعية هي خط الدفاع الأول وتتكون من الجلد، والشعر، واللحاب، وإفرازات الأنسجة المخاطية، والغدد مثل الدموع، والمعدو، واللحاب، وإفرازات الجلد، والسلوك الشاذ مثل: اللعق، والدوران في التراب، وإهتزاز الذيل. والميكروبات، أو الكائنات الدقيقة المفضلة والتي تعمل ضد الباثوجينات الضارة مباشرة أو غير مباشرة. وهناك أيضا جزء غذائي للمناعة الطبيعية مثل: فقدان الماء و نقص التغذية قد يقلل الإفرازات الطبيعية مما يجعل بعض الأنسجة أكثر حساسية للإصابة بالمرض، ونقص الفيتامينات، والمعادن تثبط الجهاز المناعي بالإضافة إلى مكون وراثي للمناعة الطبيعية فمثلا: وجد ان بعض الخنازير تكون مقاومة تماما للبكتريا المسببة للإسهال (E Coli) لنقص مستقبلات خلايا الأمعاء لالتصاق هذه البكتريا. كما وجد أن الذبابة الهجومية Fly Infestation للقطعان تتأثر بطول الشعر وطول الصوف وإفرازات الجلد.

ب- المناعة الذاتية والمناعة المكتسبة وهما يعتمدان على بعضهما، ويكونان شبكة من الخلايا والأنسجة والتي تتفاعل مع بعضهما لتحديد الباثوجينات ومهاجمتها، والانتجينات المصاحبة. والمناعة الذاتية أو الداخلية Innate Immune System تشتمل على:

١. كل الجهاز المناعي الذي ولد به الحيوان.
٢. الاستجابة الأولية بواسطة الجسم لازالة الميكروبات ومنع العدوى.
٣. خلايا الدم البيضاء (الخلايا الطبيعية القاتلة، ونيتروفيلز، والايوزونوفيل والمونوسيتس والماكروفاج).
٤. البروتينات المكملة (C1-C4) والتي تكون ملاصقة للباثوجين.
٥. السيتوكينيز (أنترفيرون والكيموكينيز) والتي تجذب الخلايا المناعة إلى مكان العدوى. وتبحث المناعة الذاتية دائما عن الانتوجينات (البكتيرية، الفطرية، والفيروسية). وعند إكتشاف الانتوجين يمكن للخلايا المناعية مهاجمته.

ويلاحظ أن الجهاز المناعي الذاتي ليس له خاصية التخصص لباثوجين معين، وبالتالي ليس له ذاكرة للتعرض للإصابة السابقة، أو ذاكرة التعرض لباثوجين سابق. وقد سجلت فروق بين الأنواع في المناعة الذاتية فمثلا إرتفاع النشاط التكاملي للدم Higher Haemolytic Complement Activity في الأنواع الهندية Bos Indicus يكون مصاحبا للمقاومة العالية للقراد Tick Infestation

وبالتالى لأمرض القراد Diseases Tick Borne وذلك مقارنة بالأنواع الأوربية
Bos Taurus Breeds.

ج- المناعة المكتسبة Acquired Immune System :

هى تعرض التى أكتسبها الحيوان بالتعرض للباثوجين أو الفاكسين سابقا
وبالتالى، يمكن التعرف على باثوجينات أصيب بها الحيوان سابقا والمناعة المكتسبة
تكون خاصة بانتوجين معين Antigen Specific. وهناك نوعان من المناعة
المكتسبة. المناعة المكتسبة من الخلايا المناعية Cell-Mediated Immunity وهذه
تتكون من الخلايا المناعية التى تهاجم الخلايا المصابة بالباثوجين مباشرة. والمناعة
المكتسبة Humoral Immunity من الأجسام المضادة (أنواع محددة من البروتين
المناعى) والتى توجه تجاه الباثوجين.

وتتكون المناعة المكتسبة من نوعين من الخلايا المناعية T cells, B cells وهما
خلايا بيضاء متخصصة. وتهاجم خلايا ال T الخلايا المصابة لباثوجين معين أما
خلايا B فتطور إلى خلايا متخصصة منتجة لخلايا الأجسام المضادة. Specific
Antibody Producing Cells. وتحدث المناعة المكتسبة بنوعين موجب وسالب
Passive and Active والمناعة السالبة تنقل من البقرة للعجل من خلال
السرسوب والذى يحتوى على الأجسام المضادة. والمناعة السالبة فتعد مناعة مؤقتة
فمثلا: مناعة العجل تعتمد لحد كبير على المناعة السالبة. والتى تستمر لمدة بسيطة
بعد الولادة. ويحدث نقص فى مقدرة الأمعاء على إمتصاص الأجسام المضادة
(الامينوجلوبولين)، كلما تقدم موسم الحليب. ويوجد مكون وراثى فى المناعة
السالبة فى الأبقار فقد وجد دنا ماركز DNA Markers مصاحبة للفشل فى
المناعة السالبة. لذا فمن المهم ان يبدأ العجل المناعة الموجبة فى عمر مبكر لإنتاج
خلايا مناعية Cell-Mediated Immunity، وأجسام مضادة إستجابة للانتجينات،
والفاكسينات لتحل محل المناعة السالبة وإختفاء مناعة الأم.

رابعا: الانتخاب الوراثى للمقاومة للمرض :

من الأهمية بمكان فهم المناعة الذاتية والمكتسبة من المنظور الوراثى لتطوير
برامج الانتخاب للمقاومة للمرض ،على سبيل المثال: لو كان الهدف هو تقليل
بكتريا الإسهال فى العجول الصغيرة عندئذ يكون الانتخاب يشتمل على مقدرة
وراثية للأمهات لإنتاج أجسام مضادة فى السرسوب (مناعة سالبة)، وكذلك عجل
ذو مقدرة وراثية لتطوير مناعة ذاتية ومناعة مكتسبة فى عمر مبكر للباثوجين

المسبب لمرض الإسهال، ولكن قد يكون هناك بعض المشاكل لوجود ارتباط سالب بين مقاومة الأم ومقاومة العجل، لبعض الأمراض. وعموما الانتخاب للمقاومة للمرض مكلفا كما يسبب نقص في الإنتاج وزيادة في معدل الوفيات، ونقص في طول مدة الحياة وزيادة في التشخيص والعلاج..

الانتخاب المباشر للمقاومة للمرض:

تحدث المقاومة للمرض بثلاث طرق:

أ - ملاحظة الحيوانات في بيئة معينة، أو نظام إنتاجي نقص الأعراض الإكلينيكية للمرض. وتحت هذا الاتجاه الانتخابي يمكن افتراض أن الباثوجين المرضي دائما متواجد ولكن تعبير المقاومة للمرض يكون عرضة للسؤال. ويمكن تحديد الحيوانات التي تظهر عليها الأعراض الإكلينيكية بدقة منخفضة، ولكن ليس من الضروري أن تتعرض الحيوانات السليمة للباثوجين. وتحدث الأمراض عموما في سنة أو وقت معين من السنة أو أثناء دورة إنتاجية معينة أو في مكان معين (قطيع - المرعى - المزرعة - منطقة معينة) والجدير بالذكر أن السنوات التي يكون فيها معدل حدوث المرض مرتفعا تكون هناك درجة دقة عالية، ودرجة احتمال عالية، في تحديد الحيوانات المقاومة للمرض وقد تنخفض هذه الدقة أو تنتهي في السنوات التي يكون معدل حدوث المرض منخفضا.

ب- التعرض المنظم لكل قطعان التربية للمرض، ويكون هذا الاتجاه بالطبع مكلفا، ويستوقف هذا على مدى قوة الباثوجين، ومدى ظهور الأعراض الإكلينيكية للمرض. وهذا الاتجاه يمكن اعتماده كمقياس للمقاومة للمرض. ولكن هذا يتطلب عزل العشيرة لمنع انتقال المرض للقطعان غير المخصصة للتربية.

ج- تعرض الأقارب أو المستنسخات من قطعان التربية للمرض خصوصا إذا كان هذا المرض يتسبب في معدل مرتفع من الوفيات، وهذا الاتجاه يمكن اعتماده لمعرفة مدى المقاومة الوراثية للمرض.

ويلاحظ أنه ممكن أن يحدث خطأ في تحديد الحيوانات المقاومة وراثيا للمرض لوجود خلفية مناعية سابقة (للتعرض سابقا للباثوجين) ومختلفة بين الحيوانات. ويجب أن تحدد الأبحاث أهمية الخلفية المناعية في حدوث التحيز في ملاحظة استجابة الحيوانات للأمراض. فمثلا استخدام في الماشية الانتخاب المباشر في تقليل الإصابة لمرض البروسيلا. وقد وجد زيادة المقاومة الطبيعية لمرض

البروسيليا في العجول الصغيرة من 20% إلى 59% بعد تلقيح الأبقار من طلوقة لها مقاومة طبيعية للمرض. ويستخدم الاتجاه المباشر للتجديد المظهري للحيوانات للمقاومة المرضية في البيئة المعزولة والمحكمة.

الانتخاب غير المباشر للمقاومة للمرض :

وهذا يحدث بالانتخاب لادلة للمقاومة للمرض وهذه الأدلة تشتمل على منتجات الباثوجين Pathogen Products (معدل تكاثر الباثوجين) ومخلفات الباثوجين، والاستجابة المناعية والبيولوجية للعائل للمرض. وهناك مثال واضح للانتخاب غير المباشر وهو: انتخاب الأغنام لعدد أقل من الطفيليات الداخلية أي عدد أقل للبيض في الروث، ومقال آخر في ماشية اللبن استخدام عدد خلايا الدم البيضاء Somatic Cell Count كمعيار انتخابي لتقليل الإصابة بمرض التهاب الضرع. وقياس الاستجابة المناعية، يتم بتعريض الحيوان لانتوجين، أو فاكسين. وقياس كمية الأجسام المضادة أو قياس كمية الإنتاج كان انتخاباً فاعلاً في الدواجن والخنازير. ويعتبر مقياس الاستجابة المناعية دليل مفيد للمقاومة للمرض في الماشية ويعتد هذا دليل جيد عندما يكون هناك مرض واحد تحت الدراسة. والانتخاب للاستجابة المناعية قد يحسن المقاومة لمرض معين ولكن قد يزيد الحساسية لمرض آخر، وقد أشارت إلى ذلك بعض الدراسات في الخنازير. وللاختيار غير المباشر الفعال يجب أن يكون دليل الصفات له صفة التوريث Heritable، وله ارتباط وراثي مرتفع للمقاومة للمرض، كما أن المرض تحت الدراسة من السهل قياسه وتمويله.

الخريطة الوراثية :

إن معرفة تتابع الدنا DNA Sequencing في جينوم من الفئران، و الإنسان، وبناء خرائط وراثية مماثلة في القطعان. قد أدى إلى اكتشاف جينات لها علاقة بالجهاز المناعي. ولقد اكتشفت معظم الجينات والتي لها علاقة بالمقاومة للأمراض باستخدام سلالات الفئران المرباة تربية داخلية Inbred Strains of Mice. وجدت عدد قليل من الجينات، لها علاقة بالمقاومة للأمراض في الماشية. كما وجد الجين المسمى ناب 1 (Narmp1)، أو جين المقاومة الطبيعية المرتبط ببروتين المكروفاج أن له علاقة بجهاز المناعة الذاتية. كما أن ناب 1 وجد مرتبطاً وله علاقة بالمقاومة لمرض البروسيليا، والسل، والسلمونيليا ولقد تم تجديد النظر Homologues للناب 1 ومعرفة تتابعه، وموقعه على الخريطة الوراثية. وتعد

والجينات المرتبطة بالاستجابة المناعية الخاصة والمسماة (MHC) Complex Major Histocompatibility من أوائل الجينات التي تم تحديدها تتابعياً ووضعها على الخريطة الوراثية والتي لها علاقة بالأمراض.

وتعتبر جينات MHC ذات درجة عالية من التعددية الاليلية أي لها درجة عالية من البلومورفيزم. بمعنى أن أكثر من اليل للجين الواحد يتواجد في العشيرة، ولقد تم تحديد أكثر من 50 اليل من MHC. ودرجة البلومورفيزم العالية لـ MHC والتي هي خاصة Unique بكل فرد (أكثر من 100 مليون توليفة محتملة) تشرح جزئياً كيف يمكن للجهاز المناعي أن يهاجم مثل هذا العدد الكبير من الانتيجينات، ويمكنه أيضاً التمييز بين الانتوجين الغريب والانتوجين الذاتي الدخلى. ولقد وجد في ماشية الحليب أن MHC للبقرة مرتبطة بالمقاومة للمرض لصفات ذات أهمية اقتصادية مرتفعة. أما في الدواجن وجد أن الـ MHC مرتبطة بالمقاومة لمرض (مارك) وكذلك المقاومة (لكوليرا) الدواجن.

وتتم اكتشاف جينات فردية تؤثر في المقاومة المرضية لقطعان الحيوانات مثل الجين المسمى فمبريا F4 (K88) في الخنازير، والذي يقلل بكتريا الإسهال (E Coli) في أمعاء الخنازير. وجين البريون بروتين (PrP) والذي له علاقة بالإصابة بالجرب في الأغنام، والذي يسبب تساقط الصوف، (وهو مرض يصيب الجلد). وقد يسبب فقدان في الجهاز العصبي وتدهور في الجهاز العصبي المركزي. وكذلك الجين المسمى بـ TNC والذي له علاقة بالإصابة بالسالمونيلا في الدواجن.

من الواضح أن النظام المناعي معقد وإن هناك عدد من الجينات تدخل في المقاومة للأمراض، وإن الخرائط الوراثية يمكن أن تؤدي إلى ظهور كيو تي ال، أو مناطق معينة على الكروموسوم ذات علاقة بالمقاومة للأمراض وقد وجد أن هناك منطقة على الكروموسوم رقم 1 مرتبطة بمرض العين البمبي Keratoconjunctivitis في الماشية.

وقد تم تحديد عدد من الكيو تي إل والتي لها تأثيرات مختلفة على الأمراض فمثلاً. تم تحديد 14 كيو تي إل مرتبطة بمؤشرات مختلفة للمقاومة لمرض مارك في الدواجن Mark's disease وهو مرض يصيب الجهاز الليمفاوي في الدواجن وقد يصيب أيضاً الجهاز العصبي ويؤدي إلى الشلل. وهناك 16 كيو تي إل مرتبطة بمؤشرات مختلفة للتحمل لمرض التريبانوسوموسيس Trypanosomosis في الخليط بين ماشية إن داما N' Dama وماشية البوران Boran cattle ومن ثم نجد

عدد من الكيوتى إل لها تأثيرًا مختلفًا على انتقال العدوى ويبقى السؤال الهام وهو أى من الكيوتى إل أكثر فاعلية فى المساعدة للتعامل مع المقاومة للمرض؟

والإجابة العامة هى الكيوتى إل التى تقلل من تأثير المرض بتقليل الحساسية للعدوى هى الكيوتى إل الأنسب استعمالا ويبقى القرار على أى من الجينات أو الكيوتى إل تكون ملائمة للبحث أو الانتفاع بها والذي يكون من خلال المنظور لكل مرض على حده.

والسؤال الذى يطرح نفسه ما مدى الفائدة من التحسين للمقاومة للمرض، علمًا بأن تحسين المقاومة للمرض يختلف عن التحسين للإنتاج؟ فمن الشائع أن الحيوانات يمكن أن تعدى بعضها بعضًا، وبالتالي نجد أن المقاومة للمرض فى حيوان معين ليست مستقلة عن المقاومة للمرض فى حيوان آخر، ولكن يمكن أن نجد أن الإنتاج فى حيوان معين يكون مستقلًا عن الإنتاج فى حيوان آخر خصوصًا إذا لم يكن هناك صلة قرابة.

تحديد النوع الأكثر مقاومة للمرض والاستفادة منه فى برامج التربية:

لو كان هناك نوعان من الحيوانات مربا فى بيئة معينة كيف يمكن تحديد النوع الأكثر مقاومة؟ أو كيف يمكن إختبار النظرية الفرضية أن النوعين يحملان ميكانيزم مختلف للمقاومة الوراثية لمرض معين؟

هناك خطوات يجب اتباعها للإجابة عن هذا التساؤل:

أولاً: يجرى مسح وراثى لمتسع العشيرة Genome-Wide QTL Interval Mapping لتحديد الكيوتى إل بإستخدام خريطة المسافات، مثلاً مع إستخدام عديد من الماركرز الوراثية فى جيل F2 أو جيل التلقيح الرجعى Backcrosses بين النوعين، حيث أن معلومات الماركرز تزودنا بأسهل الطرق لتقدير التنوع الوراثى داخل وبين أى مجموعة من الأنواع (ومن أمثلة ذلك الاحتمال للتريبانوسوموسيس Trypanosomosis tolerance. الحيوانات فكلما أمكن التمييز الوراثى بين عشيرتى النوعين فى قطعان الحيوانات كلما زاد إحتمال وجود تعددية اليلية تميز بين النوعين Distinct genetic polymorphism، وامكن للانتخاب أن يثبت جينات خاصة بالمقاومة المرضية فى عشيرة معينة.

ثانياً: مع تحديد موقع الكيوتى إل وحجمها، يجرى فى الوقت نفسه تسجيل للقيم المظهرية أى:

أ - تحديد مظهر الأنواع النقية Performance of purebreeds أو تحديد القيمة المظهرية لصفة المقاومة لمرض معين.

ب- تحديد مظهر افراد جيل ال F2 الناتج عن خلط النوعيين الأصليين، أو تحديد مظهر افراد الخلط الرجعي Backcross.

ثالثا: الاستفادة من أحد الأنواع الأصلية الأكثر مقاومة للمرض في برامج للخلط أو تكوين نوع جديد من خلال الانتخاب من الجيل F2، أو من الانتخاب من جيل عشيرة الخلط الرجعي Backcross Population أو إدخال كيو تي إل QTL من نوع أكثر مقاومة لنوع آخر.

رابعاً: يجب التأكد من ان برنامج التحسين الوراثي يمكنه إدخال ما يسمى ماركر قاعدي للانتخاب Marker-based selection اي ان هذا البرنامج لا يعتمد فقط على قيمة الماركر في تحديد الكيو تي إل ولكن على تكاليف والإمكانية اللوجستية في استخدام الماركر في برنامج التحسين الوراثي.

دور الماركر في دراسة المقاومة المرضية وتحسين الانتاج :

من المعروف ان الحيوانات التي لاتمتلك مقاومة تامة لمرض معين يظهر عليها نقص إنتاجي عند إصابتها بهذا المرض، ووجود مستوى عدوى مرتفع مع وجود مستوى منخفض من المقاومة للمرض مما ينتج عن ذلك نقص في الإنتاج. وعندما يكون مستوى المقاومة مرتفع، لا يظهر تأثير العدوى على الإنتاج، وعند وجود مستوى عدوى ثابت، ومستوى مقاومة ثابت Constant Infection Preasure، يتسبب الانتخاب في زيادة المقدرة الإنتاجية (الإنتاج الذي يحدث في غياب العدوى)، وزيادة مستوى المقاومة كذلك والمثال على ذلك هو ترايبونوسوموزيس Trypanosomosis. ان الماشية المحلية المقاومة لمرض الترايبونوسوموزيس قد تحسن إنتاجها ومقاومتها نتيجة للانتخاب. ويتطلب قياس القيمة المظهرية الإنتاجية تعرض الحيوان للباثوجين، والبديل لذلك هو تربية الحيوان تحت بيئة غير معدية (أو تحت علاج)، ودمج المقدرة الإنتاجية مع وجود QTL كيو تي إل للمقاومة المرضية، والتنبأ بالإنتاج مع وجود معدل ثابت من العدوى. وفي الواقع نجد ان معدل الإصابة ليس ثابتا بل يتغير مع الوقت وينتج بالتالي تأثير انتخابي متقطع للمقاومة المرضية عند تطبيق الانتخاب الفردي على الإنتاج الملاحظ، واستخدام الكيو تي إل يساعد في الانتخاب للمقاومة المرضية بغض النظر عن وجود العدوى من عدمه.

ويمكن إيجاد العلاقة بين مستوى المقاومة للمرض R (Resistance) والإنتاج الملاحظ (P_0) Observed Production في وجود العدوى . والمستوى الإنتاجي الذي يمكن تحقيقه لو كان الحيوان لديه مقاومة تامة يسمى المقدرة الإنتاجية Potential Production ويرمز له بالرمز P_p . وفي وجود العدوى المرضية يكون الإنتاج الملاحظ (P_0) هو دالة في كل من المقدرة الإنتاجية، والمقاومة $P_0 = f(R) \cdot P_p$ ، حيث ان $f(R)$ هي دالة في المقاومة والتي تصف تأثير المقاومة على الإنتاج الملاحظ ويمكن هنا ان نميز بين ثلاثة أقسام من المقاومة والتي يكون الفصل بينها بنقاط حدية . في القسم الأول تكون الحيوانات حساسة للمرض Susceptible عند انخفاض مستوى المقاومة للمرض عن أقل نقطة حدية Lower Threshold(L) وفي هذه الحالة يتوقف الإنتاج عند $P_0 = 0$.

وفي القسم الثاني تكون الحيوانات مقاومة تماما للمرض عندما يكون مستوى المقاومة للمرض فوق أعلى نقطة حدية Upper Threshold(U) عندئذ يكون الإنتاج الملاحظ مساويا للمقدرة الإنتاجية Production Potential أو مساويا الإنتاج عند أقصى مقاومة أي $P_0 = P_p$.

وفي القسم الثالث تكون الحيوانات ذات مقاومة جزئية للمرض أي تقع الحيوانات بين النقطتين الحديتين L , U ويصبح الإنتاج الملاحظ أقل من المقدرة الإنتاجية أو الإنتاج عند أقصى مقاومة. ويعتمد حجم النقص في الإنتاج خطيا على مستوى المقاومة عندئذ يصبح تأثير المقاومة على مستوى الإنتاج الملاحظ كالآتي:

$$\begin{aligned} f(R) &= 0 & \text{for } R < L \\ f(R) &= (R-L)/(U-L) & \text{for } L < R < U \\ f(R) &= 1 & \text{for } R > U \end{aligned}$$

R = مستوى المقاومة للمرض

L = أقل نقطة حدية

U = أعلى نقطة حدية

$f(R)$ = دالة في المقاومة للمرض

وبفرض ان القيم الحدية محددة Fixed Threshold وقيمتها تعتمد على نوع العدوى، والعوامل البيئية الأخرى يمكن فرض ان المقاومة، والمقدرة الإنتاجية تتوزع طبيعيا وأنه لا يوجد ارتباط بين المقدرة الإنتاجية والمقاومة وان قيمة المقاومة دائما موجبة.

إستراتيجيات الانتخاب للمقاومة المرضية :

هناك استراتيجيتان للانتخاب للمقاومة المرضية :
الاستراتيجية الأولى: تتم بناءً على القيمة المظهرية للإنتاج الملاحظ تحت ظروف العدوى.

الاستراتيجية الثانية تتم بناءً على وجود QTL للمقاومة للمرض والمعلومات المظهرية للمقدرة الإنتاجية تحت ظروف عدم وجود عدوى.

الانتخاب الفردي Mass Selection تحت ظروف العدوى الثابتة وفي هذه الحالة يتم ترتيب الحيوانات طبقاً للقيمة المظهرية للإنتاج الملاحظ تحت ظروف معدية والذي بعدها يتم إجراء القطع الانتخابي Truncation Selection. وعند معاملة الحيوانات بالأدوية من المفروض أن العلاج يكون قد تم بعد تسجيل الإنتاج الملاحظ. وتستخدم نتائج الانتخاب الفردي تحت ظروف العدوى الثابتة كمرجع للمقارنة بين النتائج المستخلصة من طرق الانتخاب الأخرى تحت ظروف العدوى المتقطعة.

الانتخاب باستخدام الكيوتي إال QTL Selection :

في غياب العدوى، معلومات القيمة المظهرية على الإنتاج غير موجودة، وفي مثل هذه الحالة يتم الانتخاب بناءً على القيمة التربوية للإنتاج الملاحظ والذي يُقدر باستخدام معلومات الكيوتي إال عن المقاومة المرضية ومعلومات القيمة المظهرية للمقدرة الإنتاجية. وبفرض أن عدد الكيوتي إال للمقاومة المرضية قد تم تحديده والذي يشرح الجزء من التباين الوراثي التجمعي الكلي موزعاً توزيعاً طبيعياً وبفرض أن المتوسط للكيوتي إال هو μ_{QTL} والمعامل الوراثي للكيوتي إال هو $h^2_{QTL} = 1$ لأنه من المفروض أن تكون الكيوتي إال محددة ومعروفة بدون خطأ. ويصبح الجزء من التباين الذي يشرح بواسطة الكيوتي إال ثابتاً مع الزمن (وبفرض أن تثبيت الكيوتي إال الذي يعزى للانتخاب يمكن تعويضه كلياً بتحديد كيوتي إال جديدة خلال التجربة). وتقدير القيمة التربوية للفرد هو ضعف القيمة المظهرية للنسل مقاساً كانحراف من متوسط العشيرة.

وباستخدام النموذج الخليط Mixed Model هذا التعريف يساوي القيمة الوراثية التجمعية للفرد نفسه مقاساً كانحراف من متوسط العشيرة. وفي وجود النموذج غير الخطي Non Linear يتوقع أن مظهر النسل يعتمد على كل من القيمة الوراثية للآباء وتباين مظهر النسل حول المتوسط. على سبيل المثال عندما تكون

القيمة المتوسطة للأباء للمقاومة للمرض فوق أعلى قيمة حدية Upper Threshold ، تظل القيمة المظهرية للمقاومة للنسل اسفل أعلى قيمة حدية Below upper Threshold مما يعزى الى التأثير المنديلى Mendelian Sampling وكذلك التباين فى المقاومة، والذي يقلل من القيمة الملاحظة للإنتاج فى النسل. كذلك نجد ان القيمة التربوية المقدرة للإنتاج الملاحظ Observed Production لايمكن ان تعتمد على القيمة الوراثية للأباء. ولكن القيمة المتوقعة للإنتاج للنسل يجب ان يتنبأ لها لان الهدف من التربية هو تحسين القيمة المظهرية الإنتاجية فى ظروف العدوى، وان مظهر النسل سوف يتنبأ له فى ظروف العدوى المرضية والقيمة الملاحظة لإنتاج النسل يتنبأ لها من متوسط الآباء وتباين مظهر النسل حول المتوسط، وعند معرفة القيمة التربوية المقدرة للمقاومة للأباء تصبح القيمة المظهرية للمقاومة للنسل موزعة طبيعيا بمتوسط.

$$1/2ebv_P + 1/2ebv_M$$

$$R_o \text{ وتباين } \sigma_{PR}^2 - 1/4 P_M \sigma_{AR}^2 \text{ حيث ان } R_o$$

$$R_o \sim N(1/2ebv_P + 1/2ebv_M, \sigma_{PR}^2 - 1/4 P_M \sigma_{AR}^2)$$

ebv_P تمثل القيمة التربوية لمقدرة الأب للمقاومة، ebv_M تمثل متوسط الزيجات . التباين المظهرى لمقاومة النسل معطى الأب (أى انتخاب الأب بناءً على الكيوتى ألى للمقاومة للمرض) يشرح الكمية $1/4 P_M \sigma_{AR}^2$ من التباين المظهرى للنسل.

وان مربع معامل الارتباط بين تأثير الكيوتى ألى والقيمة التربوية لمقاومة المرض $P_m =$ القيمة المظهرية للمقاومة للنسل $R_o =$ وبناءً على متوسط وتباين R_o نسبة ألى P_L من النسل سوف تكون لها قيمة أقل من القيمة الحدية السفلى بينما النسبة P_U ، سوف يكون لها قيمة أكبر من أعلى قيمة حدية Upper Threshold، وان النسبة P_B تقع بين القيمتين الحديتين وتصبح قيمة

$$P_L = \phi\left(\frac{L - 1/2ebv_P - 1/2ebv_M}{\sqrt{\sigma_{PR}^2 - 1/4 P_M^2 \sigma_{AR}^2}}\right)$$

$$P_U = 1 - \phi\left(\frac{U - 1/2ebv_p - 1/2ebv_M}{\sqrt{(\sigma_{PR}^2 - 1/4P^2\sigma_{AR}^2)}}$$

تمثل النسبة الدنيا (الجزء من الذيل السفلى) من المحنى الطبيعي القياسى

$$P_B = 1 - P_L - P_U$$

ويمكن ان يكون واحد او اثنين من القيم P_U, P_B, P_L مساويا صفرا.

ومعرفة توزيع المقاومة للمرض فى النسل يمكن منه التنبأ بالقيمة الإنتاجية للنسل بإعطاء نسبة من الوزن المناسب للإنتاج الملاحظ فى كل جزء من التوزيع لقيمة المقاومة للنسل R_O

و قيمة $P_O=0$ للجزء $R < L$

و قيمة $P_O = P_p$ للجزء $R > U$

وتصبح قيمة الإنتاج المتوقعة للنسل $SCP_O = P_B * P_{OB} + P_U * P_p$

حيث $P_{OB} = ((\mu_{RM} - L) / (U - L)) * P_{po}$

وهى القيمة المتوقعة للإنتاج للنسل عندما $L < R < U$

$$P_{po} = 1/2 P_p \text{ sire} + 1/2 P_p \text{ mate}$$

وهى القيمة المتوقعة للمقدرة الإنتاجية للنسل Expected potential production .of offspring

والقيمة المظهرية المتوقعة لمقاومة النسل فى حالة ان $L < R < U$ يمكن حسابه من

$$\mu_{RB} = (\mu_{RO} - P_U * \mu_{RU} - P_L * \mu_{RL}) / P_B$$

حيث $\mu_{RU} = \mu_{RO} + i_U \sigma_{PRO}$ هى القيمة المتوقعة للمقاومة للنسل عندما

$\mu_{RL} = \mu_{RO} - i_L * \sigma_{PRO}$ هى القيمة المتوقعة للمقاومة للنسل عندما $R < L$.

وان i_L, i_U هى العمق الانتخابي المناظر لقيمة P_L, P_U . وعموما تنتخب

الحيوانات بناءا على القيمة المتنبأ للإنتاج الملاحظ للنسل SCP_O .

وفى إحدى الدراسات باستخدام النموذج الثابت على بيانات أو جدت بواسطة نظام المحاكاة Simulation ل 50 جيلا. قوم استخدام الكيوتى إل للمقاومة المرضية عند الانتخاب لزيادة الإنتاج، وفى وجود العدوى المرضية وقورن ذلك مع الانتخاب

الفردى فى وجود العدوى المستمرة، والعدوى المتقطعة للحيوانات وأشارت النتائج ان الانتخاب للإنتاج المتنبأ وباستخدام الماركرز الوراثية المرتبطة بالكيوتى إل (كيوتى إل متعددة ولها علاقة بالمقاومة المرضية) أثرت على المقاومة ويمكنها (الإنتاج المتنبأ باستخدام الماركرز) ان تكون بديلا للانتخاب الفردى Mass Selection لزيادة الانتاج والمقاومة المرضية معا Production and Resistance Simultaneously ومع استخدام نموذج Marker Assisted Selection MAS أصبح ليس ضروريا منع الحيوان من الفاكسين او منعه من العلاج بالادوية بعد العدوى حتى يمكن أخذ القياسات الانتاجية او حتى الاحتفاظ بالحيوانات فى بيئة مصابة بالعدوى. وعموما يزداد مستوى المقاومة للمرض باستخدام الكيوتى إل عنها فى الانتخاب الفردى للإنتاج. وان التحسين الوراثى فى الإنتاج كان مقاربا أو متفوقا على الانتخاب الفردى عندما كان العمق الوراثى Heritability للمقاومة المرضية منخفضا. ولو كان الانتخاب متقطعا Intermittent عندئذ يصبح الانتخاب الفردى لتحسين الإنتاج تحت ظروف العدوى الثابتة أقل فاعلية. ووجود الكيوتى إل للمقاومة لا يؤثر فقط على مدى مقاومة الحيوان المرضية ولكن يؤثر أيضا على مدى تأقلم Adaptability الحيوان مع البيئة التى حدث فيها تحديد الكيوتى إل. وفى البيئة التى تكون العدوى فيها غائبة، أو عوامل العدوى غير ثابتة تختلف المقاومة للحيوان عنها فى البيئة التى تكون العدوى فيها موجودة، لذلك من المهم ان تحدد الكيوتى إل على الخريطة الوراثية فى البيئة نفسها التى ينتخب فيها الحيوان.

والانتخاب الناجح للقيمة الإنتاجية يتطلب معرفة كيوتى إل متعددة. وتخفض الدقة فى الانتخاب، كلما زادت المسافة بين الكيوتى إل والماركر الوراثى (اى زيادة معدل التوافق الوراثية)، والذى يؤدي إلى نقص وجود الكيوتى إل فى العشيرة وقد وجد أن تثبيت Fixation أو تحديد Detection الكيوتى إل يعادل كل منهما الآخر balance each other out ولكن وجود عدد كاف من الكيوتى إل يبقى عاملاً هاماً ليعطى توزيعاً طبيعياً. وان برنامج (م ا س) Marker Assisted Selection يؤدي الى تثبيت Fixation الكيوتى إل وبالتالي الى نقص كبير فى التباين الذى يعزى للكيوتى إل.

ولكن عند افتراض وجود تداخل Interaction بسيط بين اثنين من الكيوتى إل نجد ان تغير بسيط يحدث فى الخلفية الوراثية (بتثبيت الكيوتى إل من خلال الانتخاب) يمكن ان يكون له تأثير كبير على تعبير الكيوتى إل الجديدة. ووجد انه يتم إكتشاف، وتحديد كيوتى إل جديدة بانتظام، وانه من المهم الاستمرار فى تحديد

كبيوتى إلى جديدة، لأن الكبيوتى إلى الجديدة تظهر لوجود تغيير فى التعبير خلال عملية الانتخاب.

والكبيوتى إلى التى تكتشف مبكرا هى الأهم فى عملية الانتخاب، لأن تأثير الانتخاب على تأثير الكبيوتى إلى للمقاومة يتناقص مع زيادة مستوى المقاومة، وعندما تقترب المقاومة إلى أعلى نقطة حدية تكون الزيادة فى معدل المقاومة نتيجة الانتخاب ليس ذو أهمية. وإن الكبيوتى إلى ذات التأثير الكبير عددها قليل ويتم إكتشافها مبكرا وإن هناك عددا كبيرا منها له تأثير صغير وإن الكبيوتى إلى التى تكتشف مؤخرا سوف يكون لها تأثير صغير على صفة المقاومة للمرض، لأن الانتخاب فى العشيرة يكون موجهها أكثر للإنتاج وليس للمقاومة، والتغير فى التباين لثبات الكبيوتى إلى ذات التأثير الكبير ممكن أن يحدث ويكون أقل تأثيرا عند تطبيق النموذج الحدى Threshold Model بدلا من تطبيق النموذج الخطى Linear Model.

وعندما تكون المقاومة منخفضة (فى الأجيال الأولى) يؤدى الانتخاب للإنتاج الملاحظ إلى زيادة المقاومة بدلا من الزيادة فى المقدرة الإنتاجية، وبزيادة مستوى المقاومة يؤدى الانتخاب للإنتاج الملاحظ إلى زيادة فى كل من المقاومة والمقدرة الإنتاجية. ومجرد أن تصل المقاومة فوق أعلى قيمة حدية يصبح الانتخاب على الإنتاج الملاحظ مساويا للمقدرة الإنتاجية.

المقاومة لمرض التهاب الضرع Marker and Genetic Resistance to Mastitis:

تم دراسة العلاقة بين الماركر المصاحبة للمناعة لمرض التهاب الضرع، وعلاقة ذلك بالقيمة التربوية المتوقعة لمقاييس مرض التهاب الضرع فى أبقار الهولستين فريزيان، وكانت مقاييس مرض التهاب الضرع هى عدد خلايا الدم البيضاء (Somatic Cell Count (SCC، التهاب السريرى (Clinical Mastitis (CM)، العدوى الداخلية (Intramammary Infection (IMI) فى وجود ميكروب رئيسى Major، وميكروب ثانوى Minor، وكانت الاليلات هى:

١- اليلات المطابقة النسيجية الرئيسة للبقر Bovine Major Histocompatibility وهو اليلات الجين DRB3.2 وعددها إحدى عشرة اليلا.

٢- اليلات جين المناعة IgG2 وهما IgG2^a, IgG2^b وهناك ثلاثة تراكيب وراثية لجين المناعة هى:

AA(IgG2^a), AB(IgG2^a/IgG2^b), BB(IgG2^b/IgG2^b)

٣- اليلات نقص الليكوسيت Bovine Leukocyte Adhsion Defficiency (BLAD) وهو الجين CD18 والطفرة له هي D128G.

النموذج الاحصائي:

$$D_i = MHC_i + IgG2_i + BLAD_i + \varepsilon_i$$

حيث D_i تمثل القيمة التربوية المتوقعة للبقرة i لكل من لكل من SCC, IMI major CM, IMI minor المتغير MHC_i يمثل مجموع تأثير استبدال الجين لاليل m في الجين DRB3.2 مضروبا في عدد النسخ ($n = 0, 1, 2$) للبقرة i .

المتغير $IgG2_i$ ، والمتغير $BLAD_i$ يمكن تعريفهما بنفس بالطريقة نفسها السابقة. وتأثير استبدال الجين هو الفرق بين متوسط الاليلات في كل موقع. وقد وجد ان هناك مصاحبة بين وجود الاليل DRB3.2*16 وارتفاع القيمة التربوية المتوقعة EBV لصفة عدد خلايا البيضاء SCC. وان المصاحبة بين كلا من DRB3.2*8 DRB3.2*16 وCM دلالة الدم على الحساسية للإصابة بالمرض. وكان DRB3.2*11 مصاحبا لنقص القيمة التربوية المتوقعة EBV للالتهاب السريري لمرض التهاب الضرع Clinical Mastitis بينما كان ارتفاع DRB3.2*8 مصاحبا لزيادة EBV للالتهاب السريري (CM). وان هناك تأثير معنوي للاليلات DRB3.2*24، DRB3.2*3 على العدوى الداخلية Intramammary Infection.

ووجد أيضا أن $IgG2^a$ له تأثير معنوي لخفض القيمة التربوية للالتهاب السريري CM وان حامل الطفرة للاليل CD 18 له تأثير معنوي للقيمة التربوية المنخفضة للالتهاب السريري CM.

والحيوان الذي له قيمة مفضلة لعدد خلايا الم البيضاء (قيمة منخفضة لل SCC) له الخلايا المناعية المتعادلة نيتروفيلز Neutrophils بوظائف عالية (قيمة تربوية عالية) وعدد اكبر من الخلايا المناعية الوحيدة momocytes وقد وجد ان الماركرز يكون ٤٠% من التباين الوراثي لمرض التهاب الضرع.

الباب الرابع عشر
برامج المراكز المساعدة للانتخاب (م ا س)

الباب الرابع عشر

برامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س)

Markers Assisted Selection (M A S)

المقصود ببرامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س) هي كل الدراسات والبرامج التي يستخدم فيها الماركرز كأداة مساعدة في تقييم الحيوانات وتقدير القيمة التربوية، وزيادة الدقة لتسهيل عمليات الانتخاب لتحقيق التحسين الوراثي المنشود.

أنواع الماركرز المستخدمة في برامج الماركر المساعدة للانتخاب :

١ - Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP):

ويعتمد هذا الماركر على استخدام إنزيمات التقطيع Restriction Enzymes لتقطيع الدنا DNA في مواضع معينة وتنتج التعددية الاليلية polymorphism من حذف أو ازدواج Duplication قطعة معينة من الدنا أو نتيجة لحدوث طفرة عند، مكان التقطيع. RFLP ماركر هو أساس الأبحاث الأولى ولكنه يتطلب كمية كبيرة من الدنا large amount of DNA وبالتالي يكون هذا النوع من الماركر مكلفا في برامج المسح الوراثي.

٢ - Random amplification of polymorphism DNA (RAPD):

وهذا الماركر يكون مكلفا أيضا في برامج المسح الوراثي الكبيرة وينتفع بالتحديد المنخفض للـ PCR أي ينتفع باستخدام كمية قليلة من الدنا أو باستخدام برايمرز أحادية لتتابع إفتراضى من الدنا لإنتاج سلسلة من الدنا أوصف من سلسلة من أجزاء مجهولة من الدنا وبالتالي يتطلب هذا الماركر كمية بسيطة من عينة الدنا لتحليل عدد كبير من المواقع البلومورفوزمية.

٣ - Amplified Restriction Fragment Length (AFLP):

يتطلب هذا الماركر هضم وتقطيع دنا باستخدام إنزيمات التقطيع Restriction Enzymes، ثم استخدام الـ PCR وعدد من النيكلوتيدات المختارة في برايمرز معين، وذلك لإنتاج عدد كبير من أجزاء محددة من الدنا، وفي هذه الطريقة يمكن قياس عدد من المواقع يصل لغاية 100 موقع بلومورفوزيمى، وبالتالي يتطلب هذا كمية بسيطة من الدنا لكل اختبار.

٤ - Single Sequence Repeat (SSR):

وبنى هذا الماركر على تحليل الميكروستاليت (تكرار مصغر) لاجزاء صغيرة مكررة التابع للدنا Short Repeat، وهذا ينتشر إنتشارا واسعا في جينوم الحيوانات المتعددة الخلايا Eukaryotes، وذلك لتحديد التباين في التابع البسيط للمكرارات، وبذلك يتطلب هذا التحليل قطع صغيرة من الدنا ويتميز بقلة التكلفة لكل تحليل.

٥ - Single Nucleotide Polymorphisms (SNP):

ويكتشف هذا الماركر باستخدام ال PCR، وهذا الاختبار يلقط بكفاءة نقطة الطفرة (مكان الطفرة)، وتتطلب هذه الطريقة كمية بسيطة من الدنا لكل عينة، وبالتالي تكون التكلفة بسيطة لكل عينة.

خطوات تنفيذ برامج الماركرز المساعدة للانتخاب (م ا س). Markers Assisted Selection (M A S) ويتم تنفيذه في أربع خطوات أساسية هي:

- د - البحث عن ماركرز وراثية.
- د - عمل خريطة ارتباط وراثية.
- د - إيجاد العلاقة بين الماركرز والكيوتى إل.
- د - استخدام الماركرز في برامج الانتخاب.

يتم البحث عن الماركرز باستخدام الاختبارات الوراثة مثل اختبارات RFLP, AFLP, RAPD, PCR وتعتمد هذه الاختبارات تكتيكيا على اتجاهين هما الهيردة Hybridization والامفلنكة Amplification وفي نهاية هذه الاختبارات نحصل على عدد من نسخ الدانا (DNA) لها تتابع قاعدى مطابقا للجزء المطلوب تخليقه من الدنا Target Sequence of DNA.

يتم عمل الخريطة الوراثة باستخدام تحليل الارتباط الوراثة Genetic Linkage Analysis حيث يتم ذلك في الخطوات التالية:

- أ - تحديد معدل التوافق الوراثة (ر) بين كل زوج من مواقع الماركرز وبالتالي يمكن تحديد المسافات (م) على الخريطة الوراثة في كل اثنين من الماركرز وتستخدم طريقة الحدة العظمى Maximum Likelihood أو طرائق إحصائية أخرى لتقدير قيمة (ر) بمعرفة تكرار التراكيب الوراثة.
- د - تقسيم الماركرز في مجموعات وراثية Linkage Grouping.

د- ترتيب الماركرز داخل كل مجموعة على الخريطة الوراثية وبذلك أمكن تحديد الترتيب النسبي للماركرز.

د- تقدير معدل التوافق الوراثية للنقاط المتعددة بين المواقع المتجاورة.

الارتباط بين الماركرز وال كيو تي ال، يتم باستخدام المسح الوراثي للجينوم Genome Scanning بعد تحديد المسافة بين الماركرز على طول الجينوم. ويجب تحديد عدد ال كيو تي ال الواجب أخذها على الجينوم، والتي سوف تستخدم في (م ا س) وبذلك سوف يحدد الجزء من التباين الوراثي الذي يرجع إلى عدد ال كيو تي ال المكتشفة، وهذا عامل هام في تحديد الدقة في استخدام (م ا س) ويتحدد عدد كيو تي ال بثلاث عوامل:

١- تأثير الكيو تي ال: فقد وجد أن 60% من التباين في الكيو تي ال يمكن ان يعزى الي تأثير 5% من الكيو تي ال ذات التأثير كبير الحجم.

٢- قوة التجارب الوراثية ودقتها Power of Mapping Experiment.

٣- مستوي القوة في الإختبار الإحصائي والذي يستخدم لمعرفة القيمة الحدية Significance of Threshold والتي فوقها يمكن تحديد وجود الكيو تي ال من عدمه. حيث ان انخفاض القيمة الحدية المعنوية يعني زيادة عدد الكيو تي ال التي يمكن تحديدها والتي من بينها عدد غير حقيقي من الكيو تي ال وهذا يقلل الدقة في (م ا س). وارتفاع القيمة الحدية يعني قلة عدد الكيو تي ال التي يمكن تحديدها.

نتائج هامة للاستجابة للانتخاب باستخدام الماركرز:

١- برامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س) يمكن ان تستعمل لزيادة معدل التحسين الوراثي وزيادة درجة الدقة في الانتخاب وكذلك تقليل الفترة بين الأجيال Generation Interval.

٢- الانتخاب باستخدام الماركرز لايعطي مطلقا اقل استجابة للانتخاب (م ا س) عنها في عدم وجود الماركرز وان هذه الاستجابة تتزايد بتقدم الأجيال.

٣- برنامج (م ا س) أكثر اربحية عندما يكون هناك كيو تي ال مرتبطة بماركر وان الكيو تي ال ذات تأثير كبير أي يعزى إليها (للكيو تي ال) جزء كبير من التباين الوراثي.

- ٤- يمكن تتبع الكيوتي إلى ذات التأثير الكبير حتى تثبت في العشيرة، مما يعنى إعادة تقدير تباين هذه الكيوتي إلى علي فترات حتى تقل مساهمتها في قيمة التباين الوراثي.
- ٥- استخدام أكثر من كيوتي ال في برنامج (م ا س) يضمن ميزة البقاء لهذا البرنامج ويكون العمق الانتخابي للكيوتي إلى المنفردة ليس كبيراً وان الكيوتي إلى غير المرتبطة بالماركر تساهم بجزء بسيط من التباين الكلي حيث ان الفائدة من (م ا س) يكون محددا بالجزء من التباين الوراثي الذي يعزى للكيوتي إلى.
- ٦- عند تحديد كل الكيوتي إلى المرتبطة بالماركرز فانه لن يكون هناك فرق بين قيمة العمق الانتخابي في برنامج (م ا س) (MAS) عنه في برنامج الانتخاب العادي (Non MAS).
- ٧- يمكن تحديد الكيوتي إلى باستخدام كل المعلومات عن الماركرز الموجودة علي الكرموسوم معا Simultaneously و أو استخدام الصفات المتعددة مما يؤدي الي زيادة الدقة في تحديد موقع الكيوتي إلى. كما ان تقدير تأثير الكيوتي إلى من هذا يؤدي الى زيادة الدقة (م ا س) المتتابة.
- ٨- عندما يكون الارتباط الوراثي بين الماركر والكيوتي إلى ارتباطاً واسعاً Losely linked to QTL يتطلب ذلك معرفة طور الارتباط Linked Phase الوراثي بين الماركر والكيوتي إلى سواء طور التزاوج Coupling، أو طور النفور Repulsion، وذلك لكل عائلة تحت الدراسة. والبديل لذلك هو البحث عن ماركرز في حالة ارتباط غير متزن (Linkage Disequilibrium (LD مع الكيوتي إلى ويجب ان يستمر هذا الارتباط بين الماركر والكيوتي إلى عبر العشائر across families.
- ٩- يسمح الارتباط غير المتزن باستخدام (الماركر-كيوتي إلى) ومعرفة تأثيرها عبر العشائر أو عبر العائلات across families. ويعتمد (م ا س) علي الاستفادة من التباين الوراثي الذي يعزى الي الارتباط غير المتزن وقد وجد ان الخلط بين خطوط الانتخاب احدي الوسائل لايجاد الارتباط غير المتزن. ولذلك هناك أهمية خاصة (م ا س) وهو ادخال جينات من عشائر مصدرية (السلالات الاصلية) الي الخطوط التجارية (الخطوط التجارية في الدواجن مثلاً) كما هو الحال في عملية الخلط Crossbreeding.

١٠- في حالة استخدام الماركرز يجب البحث عن ماركرز قريبة جدا (إجزاء من ال CM الواحد مثل 4,10) أو مرتبطة ارتباطا قويا بالكيوتي إل. ويصبح الارتباط غير المتزن كاملا Complete Linkage Disequilibrium عند تحديد ماركرز متعددة الاليات Unique polymorphic Markers وقريبة جدا ومرتبطة ارتباطا وثيقا لكيوتي إل معين. ويصبح كل اليل من اليلات الكيوتي إل اليل متطابقا بالنسب (اليل IBD). وتصبح اليلات الكيوتي إل مرتبطة ارتباطا وثيقا بالماركر الخاص بها Uniquely Associated with it's Own DNA Marker، وهنا يكون الانتخاب ذو تأثير علي اليلات الكيوتي إل نفسها أي الانتخاب المباشر للكيوتي إل.

١١- استخدام الارتباط غير المتزن يؤدي إلي إجراء (م ا س) سهلا حيث انه وليس من الضروري وجود طور الارتباط لكل عائلة طلوقة معينة وليس من الضروري تقدير التأثيرات داخل كل عائلة، وليس من الضروري تراكم البيانات المظهرية Phenotypes والوراثية Genotypes.

١٢- يمكن استخدام الماركر هابلوتيب Marker-Haplotype (مجموعة من اليلات لمواقع وراثية قريبة من بعضها) في حالة ارتباط غير متزن قوى Strong LD مع الكيوتي إل وهذه الماركر هابلوتيب تكون غالبا متطابقة بالنسب IBD وقد تحمل اليلات الكيوتي إل نفسها.

١٣- إن (م ا س) له أهمية كبيرة في الانتخاب للصفات المرتبطة بالجنس Sex Limited Traits والانتخاب المبكر للحيوانات لأجراء اختبارات مستقبلية، وانتخاب الحيوانات الصغيرة والمشابة أو انتخاب الأجنة وكذلك دراسات الأمراض الوراثية.

١٤- الماركر جين DGAT1 والذي يلعب دورا في إنتاج الحليب ومكوناته، نجد ان هذا الجين له اليلين هما: اليل الليسين وهذا له تأثير واضح في إنتاج محصول الدهن، وكذلك نسبة الدهن في الحليب وعلى النقيض من ذلك نجد ان اليل الألانين لل DGAT1 له دور هام في إنتاج الحليب ومحصول البروتين. وفي الولايات المتحدة هناك أهمية اقتصادية موجبة للالانين وقيمة سلبية لليسين، بينما أدلة الانتخاب أثبتت أهمية الليسين في بلاد أخرى كنيوزلندة مثلاً. وقد وجد ان الأبقار التي ينتهي نسبها إلى أبقار الولايات المتحدة تحتوي على تكرار أعلى من اليل الألانين (70%) بينما الأبقار التي

ينتهى نسبها إلى الأبقار النيوزلندية لها نسبة أعلى من تكرار اليل الليسين وبالطبع تكرار هذه الأليلات سواء في الأبقار الأمريكية أو النيوزلندية هو نتيجة للانتخاب المستمر لمحصول الحليب في القطعان الأمريكية، كذلك الانتخاب المستمر لنسبة الدهن في الأبقار النيوزلندية. وحيث ان تكرار اليلات الألائن والليسين مرتفعة في كلا من البلدين فإن استخدام الماركرز برنامج (م ا س) له أهمية محدودة.

١٥- تكاليف المسح الجينومي Genotyping or Genome Scan أي تكاليف البحث عن الماركر هو معادلة في عدد الأفراد.

- عدد النسل الذي سيجري عليها المسح الوراثة.
- عدد الكروموسومات.
- عدد الماركرز لكل كروموسوم.
- قيمة تكلفة الماركر الواحد وهي 4 دولار/ ماركر/ كروموسوم/ حيوان.

أسباب الاختلافات في نتائج أبحاث (م ا س) :

- ١- الاختلافات في حجم وتأثير الكيوتي إل.
- ٢- الاختلافات في تكرار الاليل.
- ٣- معدل حدوث التوافق بين الماركر والكيوتي إل.
- ٤- نوع الماركر (فردى أو هبلوتيب).
- ٥- التباين المتبقى الراجع للتأثير التعددي Residual Polygenic Variances.
- ٦- التباين البيئي.
- ٧- عدد الأجيل من الانتخاب.
- ٨- تركيب العشيرة وطريقة الانتخاب.

معوقات في استخدام برامج الماركرز المساعدة للانتخاب:

- ١- عدد الاليلات وتكرارها في العشيرة القاعدية Base Population غير معروف سواء اليلات الماركرز، أو اليلات الكيوتي إل.
- ٢- الأب الأصل Homozygous Parent لموقع الماركر حيث انه من غير الممكن تتبع أي البل من زوج الاليلات الأبوية التي تقع على الكروموسومات المتماثلة Parental Homologus-Chromosome وانتقالها للنسل.

- ٣- لو كان كلا من الأبوين خليطا، ويحملا الاليلات نفسها علي موقع الماركر، لا يمكن عندئذ تحديد مصدر الاليلات (هل هي من الأب أو من الأم) والتي يحملها النسل الخليط..
- ٥- لا يمكن ملاحظة التركيب الوراثي للكيوتي إل Genotype at QTL ولذلك لا يمكن معرفة أي من الآباء خليطا للكيوتي إل.
- ٥- من الممكن ان تكون الماركرز التي حددت وراثيا Selectively Genotyped تكون لجزء فقط من حيوانات العشيرة.

تم بحمد الله

المراجع

المراجع

References

- Anderson, L (2001) Genetic issection of phenoyypic diversity in farm animals. *Nature Revs.Genet.*2: 130-139.
- Ashwell, M.S., W.Heyen, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, Y.Da., P.M, M.Ron,J.I. Weller,and H.A.Lewin (2004).Detection of Quantitative Trait Loci affecting milk production, Health and reproduction traits in Holstein cattle. *J. Dairy. Sci.* 86:468.
- Bennewitz, N.R., S. Paul, C. Looft, B. Kaupe, C. Weimann, G. Erhardt, R. Reents,and E. Kalm (2003). The DGAT1-k232A mutation is not solely responsible for the milk production Quantitative Traits Locus on the Bovine Chromosome 14 .*J. Dairy. Sci.* 87:431.
- Casas,E., S.N.White, D.G. Riley, T.P.L, Smith, R.A. Brennett, and C.C. Chase, Jr (2003). Assesment of SNP in genes residing on Chromosome 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos Indicus cattle. *J Anim. Sci.*83:13.
- Churchill,G.A, and R.W. Doerge (1994) Empirical Threshold values for Quantitative Trait Mapping. *Genetics* .138: 963.
- Chen,G.H., X.S. Wu,D.Q. Wang, J.Qin, S.L.Wu,Q.L. Zhang and .O.Olowofeso. Cluster analysis of 12 Chinese native chicken populations using Microsatellite markers (2004). *A.J.A.S.* 17:1047.
- Dekkers, J.C.M (2004). Commercial applications of marker and gene-assisted selection in livestock. Strategies and lessons. *J. Anim. Sci:* 82: E313
- Fernando, R.L, and Grossman, M (1989). Assisted Selection using best linear unbiased prediction. *Genetics Selection Evaluation.* 21,467.

- Gianola, D (2005). Prediction of Random effects in finite mixture models with Gaussian components. *J. Anim. Breed. Genet.* 122: 145.
- Goddard, M.E., and Meuwissen, T.H.E (2005). The use of linkage disequilibrium to map Quantitative Trait Loci. *Austr. J. Exp. Agric.* 45:837.
- Knott, S.A., J.M. Elsen, C.S. Haley (1996). Methods for Multiple-Marker mapping of Quantitative Trait Loci in half-sib populations. *Theor. Appl. Genet.* 93:71.
- Goddard, M.E (1992). A mixed model for analysis of data on multiple genetic markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 878.
- Jim Hai-Guo., Zhao yu-min and Zhou Guo-li (2005) Analysis of Microsatellite cattle breeds and application to population genetics studies. *AJAS* .18:1696.
- Kelm, S.C., J.C.D etilleux, A.E. Freeman, M.E.K ehrli. Jr, A.B. Dietz, L.K. Fox. J.e. Bulter, I. Kasckovics and D.H. Kelley. (1077). Association of Molecular and Physiological Markers of Immunity with Measures of Mastitis in periparturient Holstein cattle. Iowa State Report.
- Lander, E.S., and D. Botstein (1989) .Mapping Mendelian factors underlying Quantitative Traits using RFLP Linkage Maps. *Genetics*: 121:185.
- Liu,L., G.B. Jansen, and C.Y. Lin (2004). Quantitative trait Loci Mapping for dairy cattle production traits using a maximum likelihood. *J. Dairy. Sci* 87:491.
- Liu, Y and Z.B. Zeng (2005). Mixture model equations for marker assisted genetic evaluation. *J. Anim. Breed Genet.* 122:229.
- Meuwissen, T.H.E., and M.E. Goodard, 2000. Fine Mapping of QTL Using Linkage Disequilibria with Closely linked Marker Loci. *Genetics* 155:421.

- Meuwissen, T.H.E., and J.A.M. Van Arendonk (1992). Potential Improvement in Rate of Genetic gain from Marker Assisted Selection in dairy cattle breeding Schemes. *J. Dairy. Sci* 75:1651.
- Montaldo, H.H, and C.A. Meza-Herrera (1998). Use of Molecular markers and Major genes in the genetic Improvement of livestock. *Molecular Biology and Genetics*.1:1.
- M. Perez-Enciso and I. Misztal (2004) xpak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analysis. *Bioinformatics*. 20:2792.
- Nengjun Yi, Samprit Banerjee, Daniel Pomp and Brian S, Yandell (2007). Bayesian Mapping of Genomwide Interacting QTL for Ordinal Traits. *Genetics*.170:1855.
- Olsen, H.G., L, Gomez-Raya, Vage, I, Olsaker, H. Klungland, N. Svendsen, W. Kramer, G. Thaller, K. Ronningen, and S.Lien (2002). A Genome Scan for Quantitative Trait Loci affecting milk production in Norwegian dairy cattle. *J. Dairy. Sci* 85:3124.
- Olsen, H.G., S.Lien, M. Svendsen, H. Nilsen, A. Roseth, M. Aasland Opsal, and T.H.E. Meuwissen (2003). Fine Mapping of Milk Production QTL on BTA6 by combined Linkage and Linkage Disequilibrium analysis. *J. Dairy Sci*.87:690.
- Rohrer, G.A.,J.J. Ford, T.H. Wise, J.L. Vallet and R.K. Christenson (1999). Identification of QTL affecting female reproductive traits in multigeneration Meishan-White Composite Swine population. *J. Anim.Sci* 77:1385.
- Jansen, R.C (1993). Interval Mapping of multiple QTL. *Genetics* 135:205.
- Stone, R.T.,J.W. Keele, S.D. Shackelford, S.M. Kappes, and M. Koohmaraie (1999) .A Primary Screen of the Bovine Genome for Quantitative Trait Loci affecting Carcass and Growth traits. *J.Anim.Sci* 77:1379.

- Schenkel, F.S., S.P. Miller, Z. Jiang, I. B. Mendell, X.Ye, and J.W. Wilton (2006). Association of a single nucleotide Polymorphism in the Calpastain Gene with Carcass and Meat quality of Beef Cattle. *J. Anim.Sci.* 84, 291.
- Van Arendonk, J.A.M., Tier, B and Kinghorn, B.P (1984). Use of Multiple Genetic markers in prediction of breeding Values. *Genetics.* 37:319.
- Van der Waajj, E.H.P. Bijma, S.C. Bishop, and J.A.M. Van Arendonk (2002) Using Genetic Markers for disease resistance to improve production under constant infection pressure. *J, Anim. Sci.* 80:322.
- Villanueva, B,R. Pong-Wang, J. Ferandez and M.A. Toro (2005) Benfits from Marker-Assisted Selection Under an additive polygeneic genetic model. *G.Anim. Sci* 83:1747.
- Weller, J.L., Y. Kasi ,and M. Soller (1990), Power of Daughter and Granddaughter Designs for Determining Linkage Between Marker and Loci and Quantitative Trait Loci in dairy cattle. *J.Dairy.Sci.*73:2525.
- Zhang, Q.,D. Boichard, I. Hoeschele, C. Ernst, A. Eggen, B. Murkve, M. Pfister-Genskow, L.E. White, F.E. Gringnda, P.Umari, G. Thaller, and M.D. Bishop. (1998). Mapping QTL for milk production and health of Dairy Cattle in a large outbred pedigree.*Genetics.*149:1959.

المصطلحات

المصطلحات

Glossary

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

- هو اليلات متعددة تكونت بالتوفيق بين هضم الإنزيم المحدد Restriction Enzyme Digestion وتضخيم الدنا باستخدام ال PCR.

Allele

- هو أحد صور الجين أو الماركر.

Average effect of Gene substitution

- متوسط تأثير إستبدال الجين وذلك عندما يحل اليل محل اليل آخر.

Backcross

- الخلط الرجعي ، أى الخلط بين التركيب الوراثي الخليط واحد الأبوين.

cM centiMorgan

- وحدة قياس المسافة على الخريطة الوراثية.

Co dominance

- عندما تكون كل الاليلات عبر عنها تماما فى الفرد الخليط.

Coefficient of Cincidence (c)

- عدد مرات العبور المزدوج الملاحظ مقسوما على العدد المتوقع والكمية 1-C تسمى التداخل العبوري (Crossover Interference).

Comparative Mapping

- خرائط المقارنة وهى إستراتيجية نقل معلومات الجينوم عبر الأجناس بناءا على التماثل فى الجينوم بين الأجناس مثل الإنسان والفيران.

Composite Interval Mapping

- هو طريقة لعمل الكيوتى إل [استخدام الانحدار الجزئى والمتغيرات فى النموذج الاحصائى تشمل على متغيرات للمسافات ومتغيرات لأجزاء أخرى من الجينوم لتنظيم التأثيرات الوراثية.

Conditional Probability

- إحتمال الحدث معطى الشرط على سبيل المثال :إحتمال الفرد له التركيب AA معطى أفراد لها التركيب الوراثى BB أى إحتمال AA مشروطا على BB

EM algorithm

- هو طريقة إحصائية تدويرية iterative لإيجاد تقديرا للحدبة العظمى للمشاكل عند وجود بيانات غائبة والطريقة تشتمل على خطوتين التوقع Expectation

والتعظيم Maximization ويستخدم هذا الالجوريثم كثيرا في التحليل الجينومي مثل تقدير معدل حدوث التوافيق وتكوين نماذج إحصائية لمواقع وراثية متعددة.

Genetic Linkage

- الارتباط الوراثي وهو الانعزال غير العشوائي للجينات أو الماركرز لوجودها قريبة من بعضها البعض

Genetic Map

- هو الترتيب الخطي للجينات أو الماركرز بناءا على معدل حدوث التوافيق الوراثة Recombination.

Genetic Marker

- هو خاصية مورثة من السهل تتبعها لتحديد فرد ولرسم الخريطة الوراثة ويمكن تعريفها كجين وظيفي أو قطعة من الدنا لها وظيفة غير معروفة.

Genome

- كل الدنا التي تحمله الجاميط.

Genome Database

- المعلومات التي تمثل كل الصفات التي يحملها الجينوم.

Genotype

- التركيب الوراثي للفرد.

Heterozygosity

- حالة الفرد الذي له اثنين من الاليات المختلفة للجين.

Homology

- التشابه الجينومي.

Information content

- القيمة السالبة المتوقعة للتفاضل الثاني لمعادلة لوغاريثم الحدية العظمى بالنسبة لثابت معين وهي مصفوفة لحالة من الماركرز المتعددة.

Interval Mapping

- مجموعة من الطرق التي تستخدم اثنين من الماركرز المجاورة لبعضها والتي تستخدم في تقدير التأثيرات الوراثة وكذلك موقع الجينات في الجينوم والتي تنظم عمل الصفات الكمية.

Lod Score

- هو اللوغاريثم للأساس 10 للنسبة بين الحدية العظمى عند النظرية الفرضية والحدية العظمى عند النظرية البديلة.

Likelihood Ratio Test

- هو إختبار لقيمة تساوى 2 مضروباً للوغاريثم الطبيعي للنسبة بين الحدبة العظمى عند النظرية البديلة والحدبة العظمى عند النظرية الفرضية $2\log(L1/L0)$ وهو يتوزع توزيع كاي بدرجات حرية تمثل الفرق بين درجات الحرية لكل من $L1, L0$.

Map density

- هو عدد الماركر فى وحدة المساحة من الجينوم.

Map Distance

- العدد المتوقع للعبور بين موقعين وهو تجمعى للمواقع المتعددة.

Marker Coverage

- هو الجزء من الجينوم الذى يمكن تغطيته بالماركرز أو أقصى طول لقطعة من الجينوم بين اثنين من الماركرز المتجاورين.

Polymorphism

- هو الاليات المختلفة والتي يمكن تحديدها للجين أو الماركرز فى العشيرة أو هى التعددية الاليلية للجين فى العشيرة.

Polymorphism Information Content (PIC)

- كمية البلومورفيزم وهو مقياس لتكرار الاليات للجين أو الماركرز.

هذا الكتاب

وأخيراً تم فتح الصندوق الأسود (الجينوم)
فانبجست منه مفاهيم ، ومعادلات ، ونظريات ،
واستراتيجيات لعلوم جديدة كلها تعمل على كشف
حقيقة التباين في أفراد وأجناس وعشائر الكون ،
والتي أسهمت في الوصول إلى علاج مشكلات
كثيرة تعسر الإنسان طوال حياته في تفسيرها أو
حلها حتى أذن الله له اكتشافها وصدق قول
" كَلَّا نُمَدُّ هَآؤُلَاءِ وَهَآؤُلَاءِ مِنْ عَطَاءِ رَبِّكَ وَمَا كَانَ عَطَاءُ رَبِّكَ

Bibliotheca Alexandrina



0664973

ISBN 977-05-2569-3



9

7 8 9 7 7 0 5 2 5 6 9 2

مكتبة الأنجلو المصرية

THE ANGLO-EGYPTIAN BOOKSHOP



The World of Words & Thoughts

www.anglo-egyptian.com